Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

589.05
CE
~~Ser. 2a~~
v. 91

NATURAL
HISTORY

BIOLOGY

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS
URBANA-CHAMPAIGN

Return this book on or before the
Latest Date stamped below.

University of Illinois Library

OCT 20 1954
APR 22 1955
SEP 18 1958
JAN 13 1959
APR 10 1967
AUG 26 1968

L161—H41

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat in Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat in Königsberg
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Geh. Reg.-Rat in Bamberg
Präsident Dr. A. Weber in Dresden

und

Prof. Dr. E. Gildemeister, Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 91. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 70 Abbildungen im Text und 4 Tafeln

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1924

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929 / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Public Domain in the United States, Google-digitized
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

589.05
CE
v.91

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 91. Heft 1.

Ausgegeben am 29. September 1923.

Nachdruck verboten.

5-25-25 EB

Ueber den Bacillus inconstans.

Zugleich ein Beitrag zur Bedeutung der Züchtungstemperatur für die Entwicklung der Geißeln und des antigenen Apparates.

[Aus der bakteriologisch-hygienischen Abteilung des Hygienischen Universitätsinstituts in Frankfurt a. M.]

Von **H. Braun** und **P. Löwenstein.**

Die Identifizierung der Ruhrbakterien mit Hilfe kultureller Verfahren ist nicht immer so leicht, wie es nach manchen Veröffentlichungen und nach den Beschreibungen einzelner Lehrbücher zu sein scheint. Beschäftigt man sich eingehend mit dem kulturellen Verhalten der Stuhlbakterien, so zeigt es sich, daß es saprophytische Mikroorganismen gibt, die nur bei eingehender Prüfung der kulturellen Eigenschaften von Ruhrbakterien differenziert werden können. Zu solchen Keimen gehört auch der Bacillus inconstans.

Auf diese Tatsache haben wir in einigen Arbeiten hingewiesen [Braun[1]), Braun und Ließ[2]), Ließ[3]), M. Ornstein[4])].

In der Veröffentlichung unseres Mitarbeiters M. Ornstein „Ueber die Bakteriologie des Schmitz-Bazillus"[4]) wurden bereits die kulturellen Eigenschaften des Bacillus inconstans beschrieben und auf die Schwierigkeiten der Differentialdiagnose zwischen diesem und anderen Bakterien aufmerksam gemacht. Diese Möglichkeit der Verwechslung des Bacillus inconstans mit anderen Bakterien ist der eine Grund, weshalb wir hier über dieses Bakterium ausführlicher berichten möchten. Er erregte aber auch aus dem Grunde unser Interesse, weil er in mehreren kulturellen Eigenschaften, die für die Identifizierung der Mikroorganismen als wesentlich betrachtet werden, Schwankungen aufweist. Es schien uns wichtig zu sein, zu untersuchen, inwieweit solche Schwankungen eines und desselben Stammes von äußeren Bedingungen abhängig sind. Auch das immunisatorische Verhalten schien uns von Interesse zu sein. In der Arbeit von M. Ornstein wurde bereits darauf hingewiesen, daß in serologischer Hinsicht die verschiedenen Stämme des Bacillus inconstans ungleich sind, und wir stellten uns nun die Aufgabe, zu untersuchen, ob die kulturellen Schwankungen mit serologischen Veränderungen verbunden sind. Zunächst mögen die kulturellen Eigenschaften des Bacillus inconstans beschrieben werden:

Zu den Versuchen verwendeten wir 4 Stämme von Bacillus inconstans, die aus Stühlen gezüchtet worden sind. Die Bezeichnung der Stämme war: V, IX, X, A.

---

1) Ztschr. f. klin. Med. Bd. 91
2) Ztschr. f. Hyg. Bd. 88. 1919.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83.
4) Ztschr. f. Hyg. Bd. 91. 1920.

572198

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es handelte sich durchweg um Bakterien, die gramnegativ waren, auf gewöhnlichem Agar üppig wuchsen, die Bouillon diffus trübten, auf Loeffler-Serum keine Farbstoffbildung und keine Erweichung zeigten, Lackmusmolke zunächst schwach röteten, später bläuten, in Milchzucker-hoher Schicht aërob und anaërob wuchsen, ohne Gas zu bilden, auf Mannit- und Maltose-Lackmusagar keine Säure bildeten, Gelatine nicht verflüssigten.

Was das Verhalten in Traubenzucker-hoher-Schicht und auf Saccharose-Lackmusagar betrifft, so zeigte jeder der untersuchten Stämme ein unbeständiges Verhalten. Auch in bezug auf Beweglichkeit und Indolbildung waren sie unbeständig. Die Traubenzucker-hohe-Schicht war nach 24-stünd. Bebrütung bei 37° durchgewachsen und meist unvergoren; manchmal trat nach 24 Std. Gasbildung ein, meistens erst nach mehrtägiger Bebrütung. Die Gasblasen waren sehr spärlich. Es handelte sich entweder um wandständige Gasblasen oder um vereinzelte Spalten in der Agarsäule; selten war die Gasbildung eine reichlichere. Oefters blieb sie ganz aus.

Was das Wachstum auf schrägem Saccharose-Lackmusagar betrifft, so wäre folgendes zu vermerken: Der Nährboden blieb die ersten 3 bis 5 Tage der Bebrütung unverändert blau, dann traten Tochterkolonien auf, die in ihrer Umgebung den Nährboden schmutzig-grünlich oder rötlich verfärbten. Gelegentlich trat eine diffuse Rotfärbung des Saccharose-Nährbodens ohne Tochterkoloniebildung oder auch eine diffuse schmutzig-grünliche Verfärbung auf.

Was die Indolbildung anlangt, so haben die Stämme IX und X nach 24-stünd. Bebrütung in der Trypsinbouillon (M. Neisser und Frieber) mit Ehrlichs Reagens Indolbildung gezeigt. Bei Stamm A und V fehlte das Indol in 24-stünd. Kulturen gelegentlich.

Was die Beweglichkeit betrifft, so wurden die Stämme V, IX, A bei der Untersuchung 24-stünd. Agar- und Bouillonkulturen, bei 37° gezüchtet, stets unbeweglich gefunden, bei Stamm X wurde sehr selten unter diesen Bedingungen Beweglichkeit einzelner Individuen festgestellt.

Es soll nun im folgenden darüber berichtet werden, ob diese unbeständigen Eigenschaften des Bacillus inconstans durch äußere Bedingungen beeinflußbar sind und ob sie in irgend einem Zusammenhang miteinander stehen.

Wir wollen zunächst jede der unbeständigen Eigenschaften für sich untersuchen und beginnen mit der wechselnden Fähigkeit des Bacillus inconstans, Saccharose unter Säurebildung zu spalten.

Die Saccharosevergärung.

Bereits in der Arbeit von Ornstein wurde mitgeteilt, daß der Bacillus inconstans auf einem Endo-Nährboden, der statt Milchzucker Saccharose enthält, zweierlei Kolonien bildet: 1) dunkelrote, metallglänzende Kolonien und 2) rosarote bis blaßrote, in denen nach einiger Zeit dunkelrote Tochterkolonien auftreten. Impft man von diesen beiderlei Kolonien ab und legt Saccharose-Endo-Plattensätze an, so entwickeln sich aus den rot wachsenden Kolonien nur rot wachsende, aus den blaßrosaroten entstehen wiederum zweierlei: dunkelrote und rosarote Kolonien.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wir haben die Versuche wieder aufgenommen und können die früher gemachten Angaben mit unseren Stämmen bestätigen. Zu bemerken wäre, daß die Rotfärbung der diffus dunkelroten Kolonien nicht immer nach 24 Std. vorhanden ist, sondern manchmal erst nach mehrtägiger Bebrütung auftritt; auch die Tochterkolonien der blaßrosaroten Kolonien treten nach verschieden langer Zeit und in verschiedener Zahl auf. Sie sind des Oefteren zunächst farblos, und erst später nehmen sie eine dunkelrote Färbung an. Die blaßrosaroten Kolonien bestehen aus Keimen von mangelhafter Begabung zur Saccharosevergärung, die roten Tochterkolonien und die dunkelroten Kolonien dagegen aus Keimen, die Saccharose unter Säurebildung zersetzen können.

Wir haben längere Zeit hindurch zahlreiche hintereinander gelegte Saccharoseplattensätze von den roten Kolonien gemacht, um zu sehen, ob ein Rückschlag in farblose eintritt, haben aber eine solche Feststellung nie machen können: die roten Kolonien bildeten stets ihresgleichen. Das Verhältnis der farblosen zu den roten Kolonien in Plattensätzen, die von blaßrosaroten herrührten, war ein verschiedenes; manchmal überwogen die roten, ein anderes Mal die farblosen. Der Bacillus inconstans verhält sich also auf dem Saccharose-Endo-Nährboden ähnlich wie das Bacterium coli mutabile Neißer-Massini[1], [2]) auf Milchzucker-Endo-Nährboden.

Wir wollen jetzt kurz darüber berichten, ob diese beiden Abarten, die rotwachsende und die farblose auch in anderer Hinsicht Unterschiede aufweisen. Um uns in folgendem kürzer ausdrücken zu können, wollen wir für die Saccharose vergärende Abart die Bezeichnung roter Stamm, für die nichtvergärende weißer Stamm, gebrauchen.

Was zunächst die Traubenzuckervergärung betrifft, so haben sich die beiden Abkömmlinge von ihrem Ursprungsstamm nicht unterschieden. Sie zeigten in bezug auf die Gasbildung aus Traubenzucker große Unbeständigkeit, indem sie einmal kein Gas gebildet hatten, ein anderes Mal Gasbildung zeigten. In ihrem Verhalten auf Nähragar, in Trypsinbouillon (Indolbildung), Loeffler-Serum, Lackmusmolke, Mannit- und Maltose-Lackmusagar waren sie untereinander gleich und verhielten sich genau so, wie es oben beim Ursprungsstamm beschrieben worden ist.

Nach dem bis jetzt Mitgeteilten besteht demnach der Unterschied nur in der schnelleren, bzw. langsameren oder auch ganz fehlenden Spaltung der Saccharose.

Weiterhin untersuchten wir, ob sich die beiden Varietäten immunisatorisch unterschieden.

Es standen uns Immunsera zur Verfügung, die wir von Kaninchen gewonnen hatten, welche entweder mit dem Ursprungsstamm oder mit dem roten Stamme vorbehandelt waren. Zur Immunisierung verwendeten wir Aufschwemmungen von 24-stünd. Agarkulturen, mit Kochsalzlösung abgeschwemmt und mit Aether abgetötet.

Das Ergebnis solcher Agglutinationsversuche war, daß von dem Immunserum des Ursprungsstammes, wie auch von dem Immunserum des roten Stammes sowohl der Ursprungsstamm wie seine beiden Abkömmlinge gleich hoch und intensiv beeinflußt wurden; geringe Unterschiede waren zwar gelegentlich vorhanden, gingen aber nicht über die

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906.
2) Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fehlergrenzen der Methodik hinaus. Auf die Wiedergabe der Versuche soll aus Raummangel verzichtet werden.

Um sicher zu sein, daß die Deutung der Ergebnisse der Agglutinationsversuche richtig war, und daß es in agglutinatorischer Hinsicht zwischen dem Ursprungsstamme und seinen Abkömmlingen Unterschiede nicht gibt, haben wir Absorptionsversuche nach Castellani ausgeführt, indem wir Immunsera vom Ursprungsstamme bzw. vom roten Stamme sowohl mit dem roten wie mit dem weißen Stamme erschöpften und die so behandelten Immunsera auf ihre Agglutinationsfähigkeit prüften. Es zeigte sich, daß man mit dem roten wie auch mit dem weißen Stamme sowohl das Immunserum des Ursprungsstammes wie auch das des roten Stammes vollständig seiner Agglutinine gegen alle Abarten berauben kann.

Zur Anstellung der Agglutinationsversuche und auch zur Absorption der Sera bedienten wir uns 24-stünd. Agarkulturen, die bei 37° gezüchtet waren. Das erwähnen wir aus dem Grunde, weil — wie wir später sehen werden — für die Ausbildung der Agglutinogene des Bacillus inconstans die Züchtungstemperatur von Bedeutung ist.

Aus den besprochenen Versuchen geht also hervor, daß sich der Saccharose vergärende und der nichtvergärende Stamm des Bacillus inconstans in ihrem agglutinatorischen Verhalten nicht unterscheiden.

Die Traubenzuckervergärung.

Die Launenhaftigkeit der Traubenzuckervergärung des Bacillus inconstans fordert dazu auf, zu prüfen, ob hier ähnliche Verhältnisse obwalten wie bei der Saccharosevergärung.

In den bereits früher von Braun mit Ornstein ausgeführten Versuchen gelang es nicht, gasbildende und nichtgasbildende Varietäten voneinander zu trennen. Wir versuchten es von neuem. Wir stellten uns Fuchsinsulfitnährböden mit Traubenzuckerzusatz (Traubenzucker-Endo-Nährböden) her und prüften die Stämme V, IX, X, A auf ihr Verhalten auf diesen. Wir hofften, daß es uns gelingen würde, die Traubenzucker schnell vergärenden, gasbildenden Bakterien von denen dazu weniger begabten zu trennen. Auf diesem Traubenzucker-Endo-Nährboden wuchs von den geprüften Stämmen eine Reinkultur von gleichartigen, in den ersten 24 Std. meist farblosen, nach 48 Std. karmoisinroten Kolonien. Verschiedene Intensitätsgrade in der Rotfärbung, die auf eine differente Fähigkeit, Traubenzucker zu spalten, zurückzuführen wären, konnten nicht festgestellt werden. Alle Individuen der Kultur des Bacillus inconstans sind demnach gleichmäßig befähigt, Traubenzucker unter Säurebildung zu zerlegen, nur einzelne spalten aber bis zur Gasbildung. Auch durch fortgesetzte Abimpfung von Einzelkolonien aus Traubenzucker-hohen-Schichten in der Nähe von Gasblasen gelang es nicht, Kulturen zu gewinnen, die regelmäßig Traubenzucker unter Gasbildung zu zersetzen vermochten. Diese Begabung der einzelnen Bakterienindividuen, Gas zu bilden, wird demnach nicht gleichmäßig auf die Nachkommen vererbt, wie die Fähigkeit, Saccharose zu spalten, sondern ist stets nur einzelnen Keimen eigen.

Wie wir weiter unten zeigen werden, ist für die Ausbildung der Geißeln beim Bacillus inconstans die niedrige Temperatur besonders günstig. Es lag daher nahe, zu untersuchen, ob nicht auch die

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Vergärung von Traubenzucker bei 22° besser vor sich geht. Wir haben deshalb die Gasbildung der Stämme V, IX, X, A in hoher Schicht bei 37° und bei 22° vergleichend untersucht, aber bei 22° dieselbe Unbeständigkeit feststellen können, wie wir sie bei 37° kennen gelernt haben. Auch durch fortgesetzte Züchtung in traubenzuckerhaltigen Nährböden ist es uns nicht gelungen, einen Stamm zu gewinnen, der regelmäßig Gas aus Traubenzucker gebildet hätte.

Die Indolbildung.

Bereits in der Mitteilung von Ornstein haben wir darauf aufmerksam gemacht, daß sich in bezug auf die Indolbildung der Bacillus inconstans verschieden verhält, indem er einmal eine starke, ein anderes Mal nur eine angedeutete Indolbildung zeigt. E. Kürschner[1]) hat auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Neißer die Indolbildung des Bacillus inconstans neben anderen Bakterienarten untersucht und festgestellt, daß das schwankende Verhalten in bezug auf Indolbildung darauf zurückzuführen ist, daß der Bacillus inconstans zwar aus Tryptophan Indol abspaltet, aber auch das Indol verwertet. Deshalb ist die Indolreaktion in jungen Kulturen positiv, nach längerer Bebrütung negativ.

Wir haben an 4 Stämmen des Bacillus inconstans diese Erfahrungen bestätigen können. Impft man einen tryptophanhaltigen Nährboden, z. B. Trypsinbouillon [Neißer-Frieber][2]), mit dem Bacillus inconstans und prüft nach 18—24-stünd. Wachstum auf Indolbildung mit Ehrlichs Reagens, so fällt die Reaktion in der Regel positiv aus. Dagegen ist nach 3—5-täg. Wachstum das Indol verschwunden. Die Unbeständigkeit des Indolnachweises beim Bacillus inconstans beruht also nicht auf einer wechselnd starken Fähigkeit, Indol abzuspalten, — jeder Stamm ist dazu befähigt —, der Bacillus inconstans zersetzt aber das gebildete Indol wieder.

Ergänzend möge noch erwähnt werden, daß ein Unterschied in der Indolbildung zwischen den saccharosevergärenden und nichtvergärenden Stämmen nicht feststellbar war.

Die Beweglichkeit.

Besonders bemerkenswert war für uns die Beobachtung, die wir sehr selten gemacht haben, daß vereinzelte Individuen mancher Inconstans-Kulturen des Stammes X, bei 37° gezüchtet, eine Beweglichkeit aufwiesen, während derselbe und die anderen Stämme IX, V und A in der Regel bei sorgfältiger Untersuchung unbeweglich waren. Die den beweglichen Kulturen des Stammes X folgenden Passagen waren wieder unbeweglich. Solches Verhalten ist bei einzelnen Bakterienarten beschrieben und die spärlichen Angaben in der Literatur finden sich in der sorgfältigen Arbeit von J. L. Burckhardt[3]) zusammengestellt.

Unter welchen Bedingungen wird der Bacillus inconstans beweglich? Da wir aus Versuchen an Proteus-Bazillen und an Typhus-

1) [Inaug.-Dissert.] Tierärztl. Hochschule. Berlin 1921.
2) Handb. d. mikrobiol. Technik (Kraus-Uhlenhuth) 1923. S. 1245.
3) Arch. f. Hyg. Bd. 82. 1914.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bazillen wissen, daß die Geißelbildung im besonderen Maße von Ernährungsverhältnissen abhängig ist [Braun und Schaeffer[1]) Braun[2]) und Feiler[3])] prüften wir zunächst, ob durch Verbesserung des Nährbodens eine regelmäßige Beweglichkeit erzielbar wäre. Wir züchteten deshalb zunächst unsere Inconstans-Stämme in Passagen in gewöhnlicher Nährbouillon, in Trypsinbouillon, auf Nähragar und auf Loeffler-Serum und bebrüteten bei 37°. Auf keinem dieser Nährböden konnte Beweglichkeit regelmäßig erzielt werden. Wir hatten zwar gelegentlich den Eindruck, als ob im Kondenswasser des Loeffler-Serums häufiger bewegliche Bazillen anzutreffen wären als auf den anderen Nährböden, aber fortgesetzte Züchtungen in Loeffler-Serumkondenswasser zeigten, daß dem nicht so ist. Unter diesen Verhältnissen wurden nur ausnahmsweise bei Prüfung sehr zahlreicher Kulturen bewegliche Bakterien festgestellt.

Wir gingen deshalb dazu über, zu versuchen, ob nicht bei Aenderung der Züchtungstemperatur die Bakterien beweglich werden. Ueberraschenderweise stellte es sich heraus, daß die Inconstans-Stämme — mit einer Ausnahme — dann Beweglichkeit gezeigt haben, wenn sie im Brutschrank von 22° oder bei Zimmertemperatur gezüchtet wurden. Die Beobachtung, daß die Beweglichkeit bei Züchtung bei niedrigerer Temperatur vorhanden, bei höherer Temperatur dagegen fehlen kann, wurde schon vor längerer Zeit an einem nicht näher definierten typhusähnlichem Bakterium von L. Günther[4]) und seinem Mitarbeiter Mironescu[5]) beschrieben. Auch Kossel und Overbeck[6]) berichten gleiches von 3 Stämmen von Pseudotuberkelbazillen.

Sowohl in Bouillon, wie auf Nähragar, Loeffler-Serum und Trypsinbouillon waren von den 4 geprüften Inconstans-Stämmen 3, bei 22° gezüchtet, regelmäßig mehr oder weniger beweglich, während sie, gleichzeitig auf denselben Nährböden bei 37° kultiviert, unbeweglich waren. Ein Inconstans-Stamm (Stamm V) blieb auch bei 22° unbeweglich.

Zunächst wurde untersucht, ob es sich bei der Züchtung bei 37° um einen Geißelverlust oder um eine Lähmung der Beweglichkeit handelt. Zettnow-Färbungen haben gezeigt, daß die Inconstans-Stämme bei Züchtung bei 22° kurze, nicht sehr zahlreiche Geißeln besitzen, während sie bei Züchtung bei 37° entweder geißellos sind oder nur ganz vereinzelte Geißeln tragen.

Wir dachten daran, daß vielleicht die Unbeständigkeiten der Saccharose- und Traubenzuckergärung und Indolbildung mit der Aenderung der Züchtungstemperatur ebenfalls schwinden könnten und prüften deshalb diese Funktionen bei Züchtung bei 22°. Doch blieben die ernährungsphysiologischen Unbeständigkeiten unter diesen Bedingungen bestehen.

Serologisches Verhalten.

Es schien uns von Interesse zu sein, zu untersuchen, wie sich die begeißelten und die unbegeißelten Bakterien in serologischer Hinsicht

1) Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 18.
2) Ztschr. f. allg. Physiol. Bd. 19. 1920.
3) Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 29. 1920.
4) Günther, L., Lehrbuch d. Bakteriologie.
5) Hyg. Rundsch. 1899. S. 961.
6) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 18.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

verhalten. Durch die oben schon erwähnten Untersuchungen an Typhus- und Proteus-Bazillen wurde gezeigt, daß sich das Ektoplasma der Bakterien vom Endoplasma in antigener Hinsicht unterscheidet. Es mag an einem Beispiele diese Tatsache kurz erörtert werden: die zwei Typen der Fleckfieber-Proteus-Bazillen (Weil und Felix), die X 2- und die X 19-Bazillen, werden, wenn sie geißelhaltig sind, sowohl von X 2- wie von X 19-Immunserum agglutiniert. Ganz anders verhalten sie sich aber, wenn sie geißellos werden, z. B. durch Züchtung auf nährstoffarmen Nährböden [Braun und Schaeffer[1])]. Dann wird jeder Stamm nur von seinem homologen, nicht dagegen vom heterologen Immunserum agglutiniert. Gleichzeitig mit dem Verlust der Geißeln gehen also auch bestimmte Agglutinogene und zwar diejenigen, welche X 2- und X 19-Bazillen gemeinsam haben, verloren, und es war naheliegend, anzunehmen, daß sich die verloren gegangenen Antigene im ektoplasmatischen Geißelapparat befinden. Allerdings war noch die Möglichkeit vorhanden, daß es sich nur um eine Parallelerscheinung handelt, indem bei der Unterernährung außer den Geißeln auch andere, nicht im Ektoplasma befindliche Bestandteile des Endoplasmas verloren gehen. Es fehlte also der direkte Nachweis, daß der Verlust bestimmter Agglutinogene ursächlich mit dem Verlust der Geißeln verknüpft ist.

Da der Bacillus inconstans bei Temperaturen von 37° auf den gewöhnlichen, nährstoffreichen Nährböden üppig sich vermehrt, unbeweglich und geißellos oder sehr geißelarm ist, bei 22° dagegen geißelhaltig ist, prüften wir das serologische Verhalten dieser beiden Formen.

Wir stellten uns entsprechende Immunsera von Kaninchen her. Als Beispiel mögen die Ergebnisse zweier Versuche besprochen werden. Ein Immunserum, hergestellt mit bei 37° gezüchteten Bakterien agglutinierte die bei 22° und bei 37° gezüchteten Kulturen ungefähr gleich hoch. Geringe quantitative Differenzen waren zwar vorhanden, sie lagen aber innerhalb der Fehlergrenzen. Anders verhielt sich ein Immunserum, das mit bei 22° gezüchteten Bakterien gewonnen war. Dasselbe agglutinierte die 22°-Bakterien deutlich intensiver und des Oefteren in stärkeren Verdünnungen als die bei 37° gezüchteten. Besonders deutlich trat der Unterschied in Erscheinung, wenn man den Agglutinationsvorgang nicht, wie üblich, bei 37°, sondern bei 22° oder bei Zimmertemperatur ablaufen ließ. Daß es sich bei diesem Ergebnis nicht um eine leichtere Agglutinierbarkeit der bei 22° gegenüber den bei 37° gezüchteten Bakterien handelte, zeigte der in folgender Tabelle als Beispiel wiedergegebene Castellanische Absorptionsversuch.

Tabelle I.
Versuchsanordnung.

Zehn 24-stünd. Agarkulturen vom Stamme IX, bei 37° gezüchtet, werden mit physiol. Kochsalzlösung abgeschwemmt und zwar zusammen in 10 ccm. 1 ccm enthält also die Bakterien einer Kultur. Je 3 ccm dieser Aufschwemmung werden in spitze Centrifugengläser gebracht und $^1/_4$ Std. lang zentrifugiert. Die gewonnenen Sedimente werden zur Erschöpfung des Immunserums benutzt. 5 ccm der Verdünnung 1 : 50 in physiol. Kochsalzlösung eines Immunserums, das gewonnen war von Kaninchen durch Injektion von mit Aether abgetöteten, bei 22° gezüchteten Bakterien des Stammes IX, wurden zunächst auf das eine Sediment gegossen, die Bakterien darin verteilt, 2 Std. im Brutschrank stehen gelassen, nachher zentrifugiert. Diese Prozedur wurde dann noch 2mal mit den zwei anderen Sedimenten wiederholt. 5 ccm derselben Verdünnung

1) l. c.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

des Immunserums in physiol. Kochsalzlösung wurden bei Brutschranktemperatur und Zimmertemperatur genau so lange stehen gelassen, wie das erschöpfte Serum, wurden aber nicht mit Bakterien behandelt. Diese beiden Verdünnungen, die mit Bakterien vorbehandelte und die unvorbehandelte wurden nun im Agglutinationsversuch gegenüber dem Stamme IX, gezüchtet bei 37° und bei 22°, ausgewertet. Das Ergebnis war folgendes:

Agglutination mit erschöpftem Serum:

Serumverdünnung	a) geprüft mit dem Stamme IX, gezüchtet bei 22°, nach 2 Std.	a) nach 24 Std.	b) geprüft mit dem Stamme IX, gezüchtet bei 37°, nach 2 Std.	b) nach 24 Std.
1:100	(+)	+	0	0
1:200	(+)	+	0	0
1:400	(+)	s. +	0	0
1:800	?	(+)	0	0
1:1600	?	s. (+)	0	0
Kochsalzkontrolle	0	0	0	0

Agglutinationsversuch mit unvorbehandeltem Serum:

Serumverdünnung	a) geprüft mit Stamm IX, gezüchtet bei 22°, nach 3 Std.	a) nach 24 Std.	b) geprüft mit Stamm IX, gezüchtet bei 37°, nach 2 Std.	b) nach 24 Std.
1:100	+++	+++	+	++
1:200	+++	+++	+	++
1:400	+++	+++	s. +	+
1:800	+	+	(+)	+
1:1600	(+)	+	(+)	s. +
Kochsalzkontrolle	0	0	0	0

Erklärung der Abkürzungen: +++ vollständige Klärung, sehr starke Agglutination, ++ starke Agglutination, + mit bloßem Auge sichtbare Agglutination, s. + schwache Agglutination, (+) mit der Lupe sichtbare Agglutination, s. (+) mit der Lupe sichtbare schwache Agglutination, ? fragliche Agglutination, 0 keine Agglutination.

Aus diesem Experiment ergibt sich, daß ein Immunserum, hergestellt mit bei 22° gezüchteten Bakterien, wenn es mit bei 37° kultivierten Bakterien erschöpft wird, seine Agglutinine für diese vollständig verliert, während für die bei 22° gewachsenen Mikroorganismen besondere spezifische Antikörper zurückbleiben.

Daraus geht hervor, daß bei dem Bacillus inconstans mit dem Geißelverlust ein Agglutinogenverlust verknüpft ist.

Diese Versuche mit dem bei 37° auf nährstoffreichen Nährböden üppig und schnell wachsendem Bacillus inconstans sprechen unserer Ansicht nach dafür, daß es sich bei dem Geißelverlust und Agglutinogenverlust nicht nur um einen bloßen Parallelismus handelt, sondern daß zwischen beiden ein ursächlicher Zusammenhang besteht. Mit anderen Worten: wir müssen annehmen, daß der ektoplasmatische Geißelapparat der beweglichen Bakterien biochemisch anders gebaut ist als das Endoplasma. Da sich die Immunitätsvorgänge in hervorragender Weise an der Oberfläche der Bakterien abspielen, muß man diesen Tatsachen bei der Untersuchung der Immunität gegen geißeltragende Mikroorganismen Rechnung tragen.

Abhängigkeit der Beweglichkeit der Coli- und Paracoli-Bazillen von der Züchtungstemperatur.

Man hat bis jetzt bei der Prüfung der Beweglichkeit und bei der Untersuchung des Rezeptorenapparates der Bakterien der Züchtungs-

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

temperatur keine besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Wir möchten hier kurz über entsprechende Erfahrungen an Coli- und Paracoli-Bazillen berichten.

Bekannt ist das schwankende Verhalten der Beweglichkeit der Coli- und Paracoli-Bazillen. Wir haben deshalb eine Anzahl von Stämmen dieser Bakterienarten bei verschiedener Züchtungstemperatur auf Beweglichkeit geprüft. In der Tat stellte es sich heraus, daß es auch bei diesen Bakterienarten Stämme gibt, deren 24-stünd. bei Zimmertemperatur oder bei 22° gezüchtete Kulturen begeißelt sind und lebhafte Beweglichkeit aufweisen, während die bei 37° gezüchteten Kulturen unbeweglich oder nur sehr vereinzelt beweglich sind.

Bei Coli- und Paracoli-Bazillen kommen aber im Gegensatz zu Inconstans-Bakterien Stämme vor, die zwar bei 22° beweglich, bei 37° unbeweglich sind, wo aber auch die 37°-Kulturen begeißelt sind. Es handelt sich also bei der Unbeweglichkeit solcher Stämme um eine Lähmung der Beweglichkeit, nicht um eine Geißellosigkeit bei Züchtung bei 37°. Dementsprechend waren, wie uns orientierende Versuche zeigten, wesentliche antigene Differenzen solcher bei 22° und 37° gezüchteten Coli- bzw. Paracoli-Bazillen nicht nachweisbar. Erwähnt sei, daß Schmitz-Bazillen oder Shiga-Kruse- oder Colitisbazillen (Braun und Liess) nie Beweglichkeit bei 22°-Züchtung zeigten.

Serologisches Verhalten verschiedener Inconstans-Stämme.

In der von Ornstein veröffentlichten Arbeit ist bereits mitgeteilt worden, daß sich die verschiedenen Inconstans-Stämme in serologischer Hinsicht different verhalten: Immunsera, die hergestellt waren von Kaninchen durch Einspritzung von mit Aether abgetöteten 24-stünd. Agarkulturen, bei 37° bebrütet, agglutinierten meist nur den homologen Stamm, die anderen Stämme gar nicht oder nur sehr schwach. Zu den Agglutinationsversuchen wurden von Ornstein bei 37° gezüchtete Kulturen benutzt. Da wir nun festgestellt haben, daß bei dieser Temperatur die Ektoplasmaentwicklung eine mangelhafte ist, und daß damit ein Verlust von Agglutinogenen verbunden ist, waren neuerliche serologische Prüfungen notwendig. Wäre es doch denkbar, daß hier ähnliche Verhältnisse wie bei Proteus-Bakterien vorliegen könnten, daß nämlich das Endoplasma der verschiedenen Stämme different, das Ektoplasma dagegen biochemisch gleichartig sein könnte. Die Versuche ergaben folgendes: ein Immunserum, das hergestellt war mit Hilfe von bei 22° gezüchteten Kulturen, agglutinierte seinen homologen Stamm, wenn er bei 22° gezüchtet war, in höherer Verdünnung, als wenn er bei 37° wuchs. In der Intensität der Agglutination zeigte sich besonders eine deutliche Differenz. Die 22°-Kulturen wurden in den starken Serumkonzentrationen kräftiger agglutiniert als die 37°-Kulturen. Die Flocken der 22°-Kulturen sind groß, während die der 37°-Kulturen fein sind. Ganz analoges Verhalten zeigte auch ein Immunserum, das hergestellt war mit bei 37° gezüchteten Inconstans-Stämmen. Auch hier waren die 22°-Kulturen besser ausflockbar als die bei 37° gezüchteten. Was nun die Frage der serologischen Beziehungan der verschiedenen Inconstans-Stämme zueinander betrifft, so hat es sich gezeigt, daß sich die bei 22° gezüchteten zueinander nicht anders als die bei 37° kultivierten Inconstans-Stämme verhielten. Es war also nicht nur das Endoplasma, sondern auch das Ektoplasma der verschiedenen unter-

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

suchten Stämme serologisch different. Wie bei Coli-, Proteus-, Colitis- und Paratyphusbazillen sehen wir auch hier innerhalb derselben Art weitgehende serologische Verschiedenheiten. Bei monatelanger Fortzüchtung konnten wir in serologischer Hinsicht schwankendes Verhalten nicht feststellen; die Unterschiede zwischen den verschiedenen Stämmen blieben dauernd bestehen. Ein Versuch über das serologische Verhalten möge in folgender Tab. II mitgeteilt werden.

Tabelle II.

Immunserum, gewonnen von Kaninchen mit durch Aether abgetöteten 22°-Kulturen des Stammes IX, wurde geprüft gegen 22°- und 37°-Kulturen der Stämme IX und X, V und A.

Immunserumverdünnung	Stamm IX 22°. Ergebnis nach 24 Std.	Stamm IX 37°. Ergebnis nach 24 Std.	Stamm X 22° resp. Stamm A oder V. Ergebnis nach 24 Std.	Stamm X 37° resp. Stamm A oder V. Ergebnis nach 24 Std.
1: 100	+++	+++	0	0
1: 200	+++	+++	0	0
1: 400	+++	+++	0	0
1: 800	+++	++	0	0
1: 1 600	+++	+	0	0
1: 3 200	+++	s. +	0	0
1: 6 400	+	(+)	0	0
1:12 800	(+)	0	0	0
1:25 600	s. (+)	0	0	0
1:51 200	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0

Zusammenfassung.

Ueberblicken wir die Ergebnisse der Prüfungen der unbeständigen Eigenschaften des Bacillus inconstans, der schwankenden Saccharose- und Traubenzuckervergärung, der Indolbildung und der Beweglichkeit, so sehen wir, daß die Unbeständigkeiten nicht auf eine Ursache zurückzuführen sind.

Von äußeren Bedingungen abhängig ist die Entwicklung des ektoplasmatischen Geißelapparates und hiermit die Beweglichkeit und das Vorhandensein oder Fehlen bestimmter Antigene. Nur bei niedriger Züchtungstemperatur sind die Geißeln und bestimmte Antigene vorhanden, sie fehlen dagegen oder sind beträchtlich reduziert bei der üblichen Züchtung bei 37°.

Das Vermögen, Saccharose zu vergären, besitzen die einzelnen Individuen einer Population in verschieden hohem Maße. Die Tüchtigsten unter ihnen vererben ihre Begabung dauernd auf ihre Abkömmlinge. In bezug auf die Saccharosevergärung verhält sich der Bacillus inconstans ähnlich wie das Coli mutabile Neißer-Massini dem Milchzucker gegenüber.

Die Eigenschaft, Traubenzucker unter Säurebildung zu spalten, haben alle Individuen einer Kultur. Aber nur einzelnen gelingt es, aus Traubenzucker Gas zu bilden. Es gelingt nicht, Kulturen reinzuzüchten,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deren Keime alle regelmäßig Traubenzucker unter Gasbildung zu zersetzen vermöchten. Hier bleibt also die Begabung, Traubenzucker unter Gasbildung zu zersetzen, auf einzelne Individuen einer Kultur beschränkt und wird nicht auf alle Nachkommen vererbt.

Das Schwanken der Indolbildung ist nur ein scheinbares. Alle Stämme sind befähigt, aus Tryptophan Indol abzuspalten. Nur muß man rechtzeitig die Prüfung auf Indol vornehmen, da es von den Bakterien verwertet und zersetzt wird (Kürschner). Es bestehen also nur Schwankungen beim Indolnachweis, nicht in seiner Bildung.

Die immunisatorischen Differenzen der verschiedenen Inconstans-Stämme untereinander haben mit den beschriebenen morphologischen und ernährungsphysiologischen Schwankungen nichts zu tun. Wie bei Paratyphus-, Proteus-, Colitisbazillen sehen wir auch hier eine serologische Mannigfaltigkeit innerhalb derselben Art. Es können vermutlich geringfügige Variationen der biochemischen Struktur der Antigene der einzelnen Stämme dieser Bakterienarten bei der Immunisierung beträchtlich differente Antikörper bedingen. Die grundlegenden Untersuchungen Landsteiners[1]) an methylierten, acylierten usw. tierischen Eiweißkörpern bedürfen dringend einer Erweiterung auf bakterielle Antigene. Die chemischen Aenderungen werden auch hier wesentliche immunisatorische Differenzen zur Folge haben.

Zum Schluß möchten wir nochmals auf die Bedeutung der niedrigen Züchtungstemperatur für die Entwicklung des Ektoplasmas beim Bacillus inconstans und für die damit verknüpfte Entstehung besonderer Antigene aufmerksam machen. Vielleicht spielt die Züchtungstemperatur auch bei anderen Bakterienarten in dieser Hinsicht eine Rolle. Die Immunitätsreaktionen können, wie wir bei der Agglutination des Bacillus inconstans zeigten, durch die Züchtungstemperatur und durch die mit ihr verbundene verschiedenartige Ausbildung des antigenen Apparates beeinflußt werden.

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 26. 1917.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber das d'Herellesche Phänomen.

III. Mitteilung.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts.]

Von Prof. Dr. **E. Gildemeister** und Dr. **Kurt Herzberg.**

In Fortsetzung unserer Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen haben wir weitere Versuche zur näheren Erkundung der Entstehungs- und Wirkungsweise der übertragbaren Bakteriolysine ausgeführt, über die wir nachstehend berichten.

I.

Die Weiterimpfung von Flatterformen im Oberflächenausstrich ergibt bekanntlich neben einer wechselnden Zahl von normalen Kolonieformen wiederum zahlreiche Flatterformen der verschiedensten Art, wie sie von Gildemeister eingehend beschrieben worden sind. Legt man nun von einer Flatterform eine Schüttelagarkultur an, so sind Flatterformen nur an der Oberfläche des Agars zu beobachten, während die in der Tiefe des Agars gelegenen Kolonien durchgängig keinerlei Abweichung von der normalen Linsenform erkennen lassen. Diese Beobachtung legte den Gedanken nahe, hier eine Hemmung des lytischen Agens durch Sauerstoffentziehung zu vermuten, und veranlaßte uns, Versuche über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Wirkung der übertragbaren Bakteriolysine anzustellen.

Da Ruhrbakterien unter Sauerstoffabschluß gar keine oder nur eine kümmerliche Entwicklung zeigen, wählten wir zu diesen Versuchen ein Coli-Lysin mit einem Titer 10^{-5} und seinen homologen Coli-Stamm. (Mit Titer 10^{-5} bezeichnen wir ein Lysin, das in 0,05 ccm einer Verdünnung 1:100000 weniger als 10 aktive Teilchen enthält. Bezüglich unserer Technik der Auswertung des Lysins sei auf Abschnitt VI verwiesen.)

Die Sauerstoffentziehung geschah in derselben Weise, wie sie von Herzberg in seinen Versuchen über die Beziehung des Sauerstoffs zur oligodynamischen Metallwirkung angegeben worden ist. Es wurden also in der üblichen Art gegossene Agarplatten mittels des Pyrogallol-Kalilaugeverfahrens innerhalb von 24—48 Std. zunächst vom Sauerstoff befreit und alsdann in Stickstoffatmosphäre entweder mit Coli-Flatterformen oder mit normalen Coli-Bazillen bespatelt, auf die das entsprechende Lysin aufgetropft wurde. In beiden Fällen kam es zu Bildern, welche den bei Sauerstoffgegenwart angesetzten Kontrollen entsprachen. Die Lysinwirkung wurde in keiner Weise durch die Sauerstoffentziehung beeinflußt.

Es ist also durch unsere Versuche die Unabhängigkeit der Wirkung der übertragbaren Bakteriolysine vom Sauerstoffpartialdruck erwiesen. —

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die von uns eingangs erwähnte Beobachtung, daß in Agarschüttelkulturen von Flatterformen nur an der Oberfläche des Agars Flatterformen entstehen, nicht jedoch in der Tiefe, beruht somit nicht auf Sauerstoffarmut, sondern, wie inzwischen von Doerr und Berger dargetan worden ist, auf einer Kolloidschutzwirkung des Agars, die verhindert, daß eingesäte Keime trotz Vorhandenseins von Lysinen zu Flatterformen verstümmelt werden.

II.

Uebertragbare Bakteriolysine lassen sich, wie wir aus den Untersuchungen von Bail, Gratia, Gildemeister, Otto, Winkler und Munter, Jötten und Seiffert u. a. wissen, auch spontan aus Bakterienkulturen gewinnen. Otto und seine Mitarbeiter, die sich mit dieser Frage sehr eingehend beschäftigt haben, erzielten Spontanlysine aus alten Bouillonkulturen durch wiederholte Beimpfung, Bebrütung und Filtration derselben Flüssigkeit. Bei Anwendung der gleichen Technik gewannen sie auch aus 2 jungen Coli-Bouillonkulturen Spontanlysine, wobei bemerkenswert war, daß diese Lysine zunächst oder ausschließlich gegen heterologe Kulturen (Ruhr- und Typhusbazillen) wirksam waren.

Nachdem wir uns durch umfangreiche Versuche überzeugt hatten, daß in alten Kulturen zwar gelegentlich, indes keineswegs regelmäßig Spontanlysine nachweisbar sind, wandten wir unser Augenmerk jungen Kulturen zu. Wir gingen hierbei von der Erwägung aus, daß die Vermehrung von Lysinen nur in Gegenwart von jungen, voll lebensfähigen Bakterien beobachtet worden ist, und daß ohne aktive Mitwirkung der Bakterien nach den bisherigen Feststellungen eine Bildung von Lysinen nicht stattfindet. Vielleicht waren die jungen Bakterien auch zur Bildung von Spontanlysinen besonders geeignet.

Die Ausführung unserer Versuche gestaltete sich folgendermaßen: Wir verwendeten nur Kulturen, die bereits 6 und mehr Jahre in unserer Sammlung sich befinden. Von ihnen wurden Bouillonkulturen angelegt, die nach 16-stünd. Bebrütung durch Berkefeld- oder Seitz-Filter filtriert wurden. Das Filtrat wurde nach dem Vorgange von Otto und seinen Mitarbeitern nicht nur an homologen Stämmen, sondern auch an anderen Vertretern der Typhus-, Ruhr-, Coli-Gruppe im Auftropfverfahren geprüft. Diese Versuche wurden an jedem Stamme 2—3 Wochen lang täglich wiederholt, so daß also innerhalb dieser Zeit täglich das Filtrat einer 16-stünd. Bouillonkultur zur Untersuchung auf lytische Fähigkeiten gelangte. Die Weiterimpfung der Kulturen erfolgte stets von der zur Filtration gelangenden Bouillonkultur nur in frische Bouillon, also nicht in das Filtrat. Die umfangreiche Verwendung von artfremden Stämmen zum Lysinnachweis hat sich als durchaus notwendig erwiesen, da es fast zur Regel gehörte, daß die Spontanlysine im Anfange ihres Auftretens meist nur gegen heterologe und erst später auch gegen homologe Stämme gerichtet waren.

Wir untersuchten in der angegebenen Weise auf das Vorkommen von spontan entstandenen Lysinen 9 Coli- und 3 Ruhr-Shiga-Stämme; als Prüfungskulturen wählten wir bei jeder Untersuchung 5 Shiga-Kruse-, 3 Flexner-, 3 Y-, 3 Typhus-, 3 Paratyphus B und 2 Coli-Stämme, also im ganzen 20 Kulturen. Es gelang uns, in 5 verschiedenen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturen Lysine nachzuweisen[1], [2]), und zwar 1mal im Filtrat der 1., 3mal im Filtrat der 2. und 1mal im Filtrat der 6. Bouillonprobe. In allen Fällen handelte es sich um Coli-Kulturen. Das einmal in der Kultur nachgewiesene Lysin blieb auch in unseren Versuchen keineswegs dauernd oder für längere Zeit in der Kultur nachweisbar; es verschwand vielmehr nach einigen Bouillonpassagen oder war bereits in der nächsten Passage nicht mehr nachweisbar, um ebenso unvermutet plötzlich wieder aufzutreten oder ganz fortzubleiben. Von den 5 Lysin nachweisbar bildenden Coli-Stämmen griffen 4 zunächst Shiga-Kruse-Bazillen an, und zwar nicht die gleichen Stämme. Flexner-, Y-, Typhus, Paratyphus B-Bazillen blieben in diesen Versuchen unbeeinflußt.

Bei 4 Coli- und 3 Shiga-Kruse-Kulturen gelang uns der Nachweis von Spontanlysinen nicht. Wenn es uns somit bei jungen Kulturen ebensowenig wie Otto und seinen Mitarbeitern gelungen ist, mit Regelmäßigkeit Spontanlysine nachzuweisen, so geht indes aus diesen Untersuchungen zweifelsohne hervor, daß die Zahl der nachweisbar Lysin bildenden Kulturen um so größer sein wird, je größer die Ausdauer des Untersuchers ist, und je mehr Prüfungskulturen zu den Versuchen herangezogen werden. Wir neigen zu der Annahme, daß wahrscheinlich jede Kultur der Typhus-Ruhr-Coli-Gruppe befähigt ist, spontan Lysin zu bilden.

Bei diesen Versuchen stießen wir in einem Falle auf ein Coli-Filtrat, das im Auftropfverfahren im Kulturrasen Defekte verursachte, die den durch echte Lysine erzeugten äußerlich glichen. Es gelang jedoch, weder Flatterformen herauszuzüchten, noch eine Vermehrung der hemmenden Substanzen in der Bouillonkultur festzustellen. In den Filtraten der in den nächsten Tagen geprüften Bouillonkulturen desselben Coli-Stammes zeigte sich dieselbe Erscheinung. Es lag hier wahrscheinlich eine Form wachstumshemmender Stoffe vor, wie sie unter anderem von Hajós und Kimmelstiel in anderer Weise nachgewiesen worden sind. Bemerkenswert ist, daß die Bouillonausgangskultur dieses Stammes nach 8-täg. Brutschrankaufenthalt keine wachstumshemmenden Erscheinungen hervorrief.

Das spontane Auftreten von übertragbaren Bakteriolysinen in Kulturen ist von verschiedenen Autoren (Seiffert, Jötten) in Verbindung mit autolytischen Prozessen gebracht worden. Die Erörterung, ob die Eingruppierung des d'Herelleschen Phänomens in das Gebiet der Autolyse gerechtfertigt ist, möchten wir noch zurückstellen. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß der Begriff der exogenen und endogenen Autolyse, den Seiffert vorschlägt, nicht mit der Autolysevorstellung E. Salkowskis in Einklang zu bringen ist. Die Autodigestion, wie sie Salkowski zuerst nannte, ist eine Wirkung intrazellulärer Fermente, also stets ein endogener Prozeß, der mithin durch die Bezeichnung endogen oder exogen entweder überbestimmt wird oder eine contradictio in adjecto erfährt. Diese Auffassung wird dadurch nicht

---

1) Hier traten die Lysine also durchgängig in nur einmal filtrierten Kulturflüssigkeiten auf. In den Versuchen von Otto, Munter und Winkler waren stets eine Reihe von Filtrationen, auch bei den 24-stünd. Kulturflüssigkeiten, erforderlich, bevor spontane Lysinbildung nachweisbar war.

2) Das gelegentliche Auftreten von Lysinen in Kulturen nach Zusatz von Salzen, z. B. $LiCl_2$ (Kuhn), braucht daher nicht auf das Lithium zurückgeführt zu werden.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

beeinflußt, daß die Autolyse durch mancherlei Eingriffe (p_H, Temperatur, Dialyse), also „exogene" Faktoren, in ihrem Ablauf weitgehend variiert werden kann.

III.

Die Angabe von Putter und Vallen über die Umwandlung gewöhnlicher Bouillon in eine solche mit lytischen Eigenschaften durch einfache Filtration wurde an einer Reihe de Haenscher Membranfilter geprüft. (Porenweite 0,65 μ, zum Teil Lieferung März 1923.) Es wurden sowohl im Dampftopf nach der Vorschrift von Eichhoff sterilisierte als auch unsterilisierte, aus der desinfizierenden Grotanlösung entnommene und durch wiederholte, 48 Std. dauernde Spülung in sterilem Aqu. dest. gewässerte Membranen verwendet. Im letzteren Falle war der Metallapparat allein sterilisiert und die Membran nachträglich mittels steriler Instrumente eingefügt worden. Filtriert wurden Peptonwasser, Fleischbrühe, Standardnährbouillon nach Kuczynski, Martin-Bouillon, Organ- (Milz-)Autolysate. Als Testkulturen dienten 18 verschiedene Stämme der Typhus-Ruhr-Coli-Gruppe. 20 Membranfilter ergaben in keinem Falle den von Putter und Vallen beschriebenen Effekt. Im Einklang mit Borchardt kommen wir zu einer Verneinung der Möglichkeit, auf rein filtrativem Wege aus gewöhnlichen Nährflüssigkeiten lytische Agentien zu produzieren. Inzwischen haben Putter und Vallen mitgeteilt, daß ihre Ergebnisse auf Versuchsfehlern beruhen.

IV.

Die Angabe von Putter und Vallen wurde aber für uns weiterhin zum Anlaß, das Verhalten der Lysine im Filtrationsapparat bei der Sterilisierung zu untersuchen. Denn die Angaben der genannten Autoren als richtig vorausgesetzt, hätte einer nicht kleinen Anzahl, mit Hilfe von Filtriervorrichtungen über das d'Herellesche Phänomen ausgeführter Arbeiten, insbesondere auch unseren unter II mitgeteilten Versuchen, der Vorwurf der Verunreinigung der Filtrate durch früher filtrierte Lysate gemacht werden müssen, da die Resultate von Putter und Vallen die Kochbeständigkeit der Lysine involvieren. Zur Sicherstellung dieser Verhältnisse wurden folgende Versuche ausgeführt.

Durch eine ungebrauchte Berkefeld-Kerze wurden 6mal hintereinander 50 ccm Bouillon (stets dieselbe Flüssigkeit) durchgeschickt und von jedem Filtrat 1 ccm zum Auftropfversuch zurückbehalten. Dann Rückspülung der Kerze, Sterilisierung für 1 Std. im Dampftopf. Darauf wird durch dieselbe Kerze 3mal 20 ccm unverdünntes Lysat (Y-Ruhr bzw. Coli, Titer 10^{-5}) filtriert, erneut rückläufig gespült und 1 Std. im Dampftopf sterilisiert; sodann werden 7 verschiedene Bouillonproben, je 20 ccm, hintereinander durchgeschickt. In jedem Falle wiesen nur die Lysinfiltrate lytische Substanzen auf, nie die Vor- oder Nachfiltrate mit reiner Bouillon. Dies änderte sich auch nicht, wenn die Rückspülung unterblieb. (Nachfiltration in diesen Versuchen mit 160 ccm Bouillon in 8 Fraktionen.)

Auch die von Seiffert gemachte Angabe, daß durch Hitze (1 Std. Aufenthalt im Dampftopf) unwirksam gemachte Lysine durch Filtration reaktiviert werden können, haben wir, da sie im Widerspruch zu un-

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

seren bisherigen Beobachtungen steht, einer eingehenden Nachprüfung unterzogen.

100 ccm y-Ruhrlysat, Titer 10^{-6}, werden $1^1/_4$ Std. im Dampftopf gedämpft. Der Plattentropfversuch läßt danach keine Lysine mehr erkennen. Sodann werden die 100 ccm des durch Hitze zerstörten Lysins in Mengen von je 25 ccm durch 4 verschiedene Berkefeld-Kerzen (2 gebrauchte und 2 neue) je 8mal hintereinander filtriert; von jedem Filtrat wird 1 ccm zum Plattentropfversuch zurückbehalten. Dieselbe Methodik wird mit 4 anderen Berkefeld-Kerzen (3 neue, 1 gebrauchte) an einem Coli-Lysat (Titer 10^{-5}) angewendet. Während in den Versuchen von Seiffert meist die Filtrate 4—6 wieder starke lytische Wirkung erlangt hatten, ließen in unseren Versuchen sämtliche Plattentropfversuche ein völlig negatives Resultat erkennen. Wir haben an 14 verschiedenen, gebrauchten und ungebrauchten Kerzen in über 100, meist 6—8mal aufeinander folgenden Filtrationen die von Seiffert alsdann beobachtete Reaktivierung hitzezerstörten Lysins nicht bestätigen können.

V.

Der Satz, daß eine Vermehrung der lytischen Substanzen nur dann möglich ist, wenn eine Bakterienvermehrung stattfindet, gehört mit zu den Grundanschauungen über das d'Herellesche Phänomen. Mehrere Gründe veranlaßten uns, diese Auffassung einer erneuten Prüfung zu unterziehen, über deren Ergebnisse wir berichten wollen, obwohl unsere Versuche zu einem definitiven Abschlusse noch nicht gelangt sind.

Die von anderen Autoren zur Klärung dieser Frage angewendete Methodik, die in Studien an den in toto abgetöteten oder nicht in der Vermehrung befindlichen Bakterien bestand, ist nicht erschöpfend genug, um ein so abschließendes Urteil zu fällen. Es fehlen bisher z. B. noch Studien am Zellpreßsaft; hier müßte, wenn überhaupt, zuerst die Möglichkeit gegeben sein, auf eine Vermehrung lytischer Substanzen in Abwesenheit von Bakterien nur durch aktivierenden Lysinzusatz zu fahnden. Aus den Arbeiten von Turro und von Kuttner, die neuerdings durch Borchardt erweitert worden sind, geht ferner hervor, daß möglicherweise ein Ferment tryptischer Natur als Auslösungsfaktor des d'Herelleschen Phänomens wirkt. Nach der Mitteilung von Borchardt (Lysis durch das aktivierte Trypsin, nicht durch das Trypsinogen) läßt der Nachweis lytischer Substanzen im Reagenzglase allein ohne Lysin- oder Fermentzusatz die Aktivierung einer bis dahin unwirksamen Vorstufe im Bakterium diskutabel erscheinen, ein Vorgang, den schon Kabeshima durch die Annahme eines Profermentes der Erklärung zugänglicher zu machen suchte. Nimmt man vor der Entstehung des aktiven Lysins aber eine Vorstufe im Bakterium an, so ist daran zu denken, daß eine Bildung aktiver lytischer Substanzen auch außerhalb der Bakterienzelle eintreten kann, analog der Aktivierung von Trypsinogen durch Enterokinase oder durch aktiviertes Trypsin [1]), die Ledebt und Delezenne sogar serienweise gelungen ist.

Wenn sich nun in einer Bouillonkultur in kürzester Zeit eine Vermehrung zugesetzter Lysine nachweisen läßt, so muß das betreffende

1) Die Möglichkeit dieses Vorganges wird allerdings von anderer Seite (Bayliss und Starling) abgelehnt.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Bakterium zu einem bestimmten Zeitpunkte eine hierfür geeignete Substanz gebildet haben. Ist ihr Wirksamwerden nicht an die Struktur der Zelle geknüpft, so kann ihre Isolierung nur eine Frage der Methodik sein.

Von diesen Gedanken ausgehend, unternahmen wir es, analog den Versuchen an der Hefezelle durch E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, den Bakterienzellsaft zu isolieren und durch Zusatz geringer Lysinmengen die Anregung zur Lysinaktivierung zu versuchen. Wir kamen nach einer Reihe von Vorversuchen zu folgender Anordnung: Die zur Gewinnung von Bakterienprotoplasma bzw. Bakterienzellsaft nötige Kultur (B. coli) wurde in 16-stünd. Bebrütung von 20 großen Drigalski-Schalen erhalten. Der Kulturrasen wurde mit einem Platinspatel trocken abgekratzt, nach dem Vorgange von M. Hahn und Cathcart sowie Maaßen in 10 ccm Azeton gebracht und nach gutem Aufschwemmen abzentrifugiert. Die Azetontrocknung wurde 2—3mal wiederholt. Dann wurden die Bakterien im sterilen Achatmörser mit frisch ausgeglühtem, feinstem Quarzsand in ganz kleinen Portionen (etwa gleiche Volumteile) kräftig verrieben, bis im mikroskopischen Bilde intakte Bakterien nur noch ganz vereinzelt nachweisbar waren. Die Mehrzahl war strukturell vernichtet, durch das ganze Bild zogen sich Eiweißniederschläge. In einigen Versuchen gaben wir dann, analog dem Vorgehen von Buchner und M. Hahn, Kieselgur hinzu, in anderen die entsprechende Menge Quarzsand, um Adsorption etwa in Freiheit gesetzter Fermente durch Kieselgur zu vermeiden. Das Gewicht des Bakterienquarzsandgemisches betrug etwa 8 g. Die pulverartige Masse kam in einen Stahlpreßzylinder mit zylindrischer Bohrung, dem jedoch, entgegengesetzt den Apparaturen von Buchner und Wolff-Eisner, der Abfluß fehlte. Die Zusammenpressung erfolgte mittels eines Stahlstempels in der hydraulischen Presse. Wir gingen in unseren Versuchen bis zu Drucken von 4000 Atmosphären, d. h. weit hinaus über die Kräfte, die Buchner und Hahn zur Isolierung der Zymase benötigten (500 Atm.), da das gleichzeitig mit der Kompression abgenommene Diagramm ergab, daß das Maximum der Zusammendrückbarkeit des Preßkuchens erst bei etwa 3000 Atmosphären erreicht war. Der Druckanstieg wurde zum Ausgleich etwaiger Temperaturerhöhungen — die, wie bemerkt sei, nie merklich waren — langsam geleitet. 4000 Atmosphären waren nach 20 Min. erreicht und wurden 5 Min. auf dem Stempel belassen. Das zusammengepreßte, tablettenartige Bakterienquarzsandgemisch zeigte keinerlei Feuchtigkeit; die ausgetretene Zellflüssigkeit war von dem staubartigen Pulver aufgesaugt.

Die Auswaschung erfolgte mit verschiedenen Medien während $^1/_2$ bis 1 Std. im Drehschüttelapparat (0,85-proz. Kochsalzlösung, Bouillon p_H 7,6, m/15 Phosphatpuffer vom $p_H = 5{,}0$; 6,0; 7,0; 8,0); an sie schloß sich die Filtration durch de Haensche Membranen (0,65 μ) oder die Ausschleuderung in der elektrischen Zentrifuge (3000 Touren, 20 Min.) an. Die so gewonnenen Bakterienpreßsäfte wurden mit einer Lysinmenge versetzt, deren Inhalt an aktiven Teilchen genau bekannt war, und darauf in verschiedenen Intervallen, bis zu 48 Std., Proben zur Untersuchung auf Vermehrung der Lysine entnommen. In einigen Versuchen wurde nach 4-stünd. Einwirken des Lysins auf die Preßsäfte 0,1 ccm vom Preßsaft mit dem P_H 5,0 in 0,9 ccm Pufferlösung mit dem p_H 7,2 übertragen und diese Lösung nach 2-stünd. Bebrütung geprüft.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Unsere Preßsaftversuche sind bisher negativ verlaufen. Es ist uns nicht gelungen, durch die Zertrümmerung der Bakterien mit nachfolgender Anwendung hoher Drucke im Bakterienzellsaft eine Lysinvermehrung in Abwesenheit lebender Bakterien zu erreichen. Wir halten jedoch diese Versuche noch nicht für abgeschlossen, da die Methodik noch mancherlei Mängel aufweist (fehlende Variation des Alters der verwendeten Kultur, elektrostatische Einflüsse bei den Auswaschungen usw.). Ehe nicht auch diese Faktoren in weiteren Untersuchungen berücksichtigt worden sind, können wir bei dem augenblicklichen Stande unserer Zellpreßsaftuntersuchungen noch keine endgültige Aussage darüber machen, ob zur Lysinerzeugung eine Bakterienvermehrung notwendig ist oder nicht.

VI.

Für die genaue Auszählung der Lysinteilchen bewährte sich folgende dem Ottoschen Auftropfverfahren und der von Seiffert angegebenen Methode nachgebildete Technik, die den Gehalt eines Lysins an wirksamen Teilchen quantitativ zu bestimmen erlaubt.

In gewöhnlichen, 100 Teilstriche aufweisenden 1 ccm-Pipetten wird von der auf Lysine quantitativ zu untersuchenden und entsprechend verdünnten Bouillon bis zu einem Grenzstrich aufgesogen. Es empfiehlt sich, Verdünnungen zu wählen, die weniger als 100 Teilchen in 0,05 ccm enthalten. Vor dem Auslauf ist darauf zu achten, daß sich am Ausfluß keine Luftblasen befinden. Um die außen an der Pipette herabgelaufene Flüssigkeit zu entfernen, wird die Spitze an der sterilen Deckelinnenseite der Petri-Schale abgestrichen, sodann 0,05 ccm als Tropfen etwas entfernt vom Rande auf die frisch mit Bakterien bespatelte Agarfläche gesetzt, worauf man die letzte nicht mehr spontan abtropfende Flüssigkeit durch Berühren des auf dem Agar befindlichen Tropfens zum Abreißen bringt. Leichtes Neigen der Platte, ohne daß der Tropfen die gegenüberliegende Glaskante erreicht. Notwendig ist, daß die Tropfenspur spätestens nach 20 Min. eingezogen ist, weil sonst durch Abschwemmung von Bakterien und Vereinigung mit Lysinen unübersehbare Vermehrungen auftreten. Es kommt dann an umschriebenen Stellen zu völliger Zerstörung des Rasens (d'Herelles Agglutinationen?), während andere Teile in der Tropfenspur ununterbrochenes Wachstum zeigen. Eine richtig behandelte Platte läßt eine durchaus gleichmäßig verteilte Lochbildung erkennen. Man erreicht dies durch etwa 1—2-stünd. Trocknen der frisch gegossenen Agarplatten auf Chlorcalciumschalen nach Rhein. Die Auszählung der Löcher nahmen wir im Lichtkegel einer Falkenthal-Lampe vor; in dem Lichtkegel der Lampe sind auch kleinste Löcher leicht zählbar.

Wir möchten diese Methode zur Bestimmung der absoluten Teilchenzahl neben der Anwendung derjenigen von Appelmans und Werthemann empfehlen, da es einerseits Lysine gibt, die im Bouillonversuch bei Brutschranktemperatur keine Lösung verursachen, während sie bei Zimmertemperatur einen Titer von 10^{-6} und mehr — nach Appelmans und Werthemann gemessen — erreichen, andererseits solche, die erst nach 48 Std. auflösend wirken. Sie können bei Nichtbeachtung der Temperatur- und Zeiteinflüsse dem Nachweis entgehen. Das Verfahren von Appelmans und Werthemann gibt mehr einen Funktionswert des Lysins, das unsere einen rein zahlenmäßigen an.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Zusammenfassung.

1) Die übertragbaren Bakterienlysine sind in ihrer Wirkung vom Sauerstoffpartialdruck unabhängig.

2) Es lassen sich bereits in 16-stünd., nur 1mal filtrierten Bouillonkulturen, die vordem nicht lytisch wirkten, Lysine nachweisen.

3) Eine regelmäßige Erzeugung lytischer Substanzen aus Normalkulturen durch tägliche Ueberimpfung und Filtration ist bisher nicht geglückt. Die Möglichkeit des regelmäßigen Nachweises von Spontanlysinen bei jedem Stamme der Typhus-Ruhr-Coli-Gruppe wird für wahrscheinlich gehalten, vorausgesetzt, daß eine große Zahl von Teststämmen Verwendung findet.

4) Die Umwandlung gewöhnlicher Nährflüssigkeiten verschiedener Zusammensetzung in solche mit lytischen Eigenschaften allein durch Filtration (Putter und Vallen) oder die Reaktivierung von hitzeinaktivierten Lysinen durch Berkefeld-Filtration (Seiffert) ist uns nicht gelungen. 1-stünd. Sterilisierung der lysinhaltigen Kerzen im Dampftopf reichte in unseren Versuchen zur Vernichtung der lytischen Substanzen aus.

5) Aus Bakterienzellpreßsaft, gewonnen durch Zerreiben von Bakterien mit Quarzsand und nachfolgende Anwendung von Drucken von 4000 Atmosphären, läßt sich — vorläufig wenigstens — keine Zellsubstanz gewinnen, die durch Lysine aktiviert, d. h. zur Produktion lytischer Substanzen angeregt werden könnte.

6) Es wird eine einfache, die Anzahl der lytischen Einzelteilchen feststellende Zählmethode beschrieben, die auf dem von Otto und seinen Mitarbeitern angegebenen Tropfversuch beruht.

Literaturverzeichnis.

Bayliss u. Starling, Journ. of Physiol. Vol. 28, 30, 32. — Borchardt, Klin. Wochenschr. 1923. S. 295 u. 791. — Buchner, E., Buchner, H., u. Hahn, M., Die Zymasegärung. 1903. — Delezenne u. Ledebt, Compt. rend. Acad. d. sc. T. 175. 1922. p. 779. — Doerr, R., u. Berger, Ztschr. f. Hyg. Bd. 97. 1922. S. 422. — Gildemeister, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 186. — Hahn, M., u. Cathcart, Münch. med. Wochenschr. 1902. S. 496. — Herzberg, Kurt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 113. — Kabeshima, Compt. rend. Soc. de Biol. Tom. 83. 1920. p. 219. — Kimmelstiel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 113. — Kuhn, Ph., ebenda. Bd. 89. 1922. S. 199. — Kuttner, Proc. Soc. Biol. Vol. 18. 1920. p. 158. a. 222. — Maaßen, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 21. S. 378. — Otto, Munter u. Winkler, Ztschr. f. Hyg. Bd. 96. 1922. S. 118. — Putter u. Vallen, Klin. Wochenschr. 1923. S. 339 u. 1072. — Salkowski, E., Ztschr. f. klin. Med. Bd. 17. Suppl. 77. — Ders., Praktikum d. physiol. Chem. 4. Aufl. 1912. — Seiffert, W., Ztschr. f. Hyg. Bd. 98. 1922. S. 482. — Ders., Med. Klin. Bd. 19. 1923. S. 833. — Turro, Compt. rend. Soc. de Biol. Tom. 84. 1921. p. 60, 290, 375, 435. — Werthemann, Arch. f. Hyg. Bd. 91. 1922. — Wolff-Eisner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. S. 385. — Hajós, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 583.

Generated on 2019-09-15 11:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Wunddiphtherie.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses Moabit (Direktor: Prof. Lydia Rabinowitsch-Kempner).]

Von Dr. **Leonardo Radice,**

Assistent der 1. Chirurgischen Klinik nnd des Unfallkrankenhauses in Neapel.

Brunner war der erste, der nach der Entdeckung des Diphtheriebazillus sein Vorkommen auch in Wunden festgestellt hat. Bei der Untersuchung von 100 granulierenden Wunden fand er 1892 3mal echte Diphtheriebazillen. 1899 wurden dann von Thorn, Sudek und Pawlowski Keime aus Wunden isoliert und als Di.-ähnliche Bazillen bezeichnet. Fast 10 Jahre später finden wir die Frage von Zullig, Deutschländer und dann im selben Jahre systematisch von Anschütz und Kiskalt in Kiel und von Weinert und Nieter in Magdeburg bearbeitet. Die hohe Zahl der besonders aus Magdeburg berichteten Di-Befunde veranlaßte nunmehr zahlreiche Autoren, auch ihr Material einer genauen Prüfung zu unterziehen. So haben Laewen und Reinhard in 57 Proz. der Fälle, Hock in 13,7, Donges und Ehlfeldt in 22, Hoffmann in 15 Proz. positive Resultate zu verzeichnen. Balhorn fand in 6,52 Proz. seiner Krankenhaus- und in 8 Proz. der ambulanten Fälle, Rode in 5 Proz. echte Di. und in 15 Di.-ähnliche Bazillen; Adami in 0,65, Venturelli konnte bei 1629 bakteriologischen Untersuchungen an Kriegsverwundeten nur einige Male Bazillen, die der Di. Gruppe gehörten, nachweisen. Kehl ist es gelungen in 60 Fällen Pseudo-Di.-Bazillen zu isolieren, niemals aber echte Di. Harms berichtet über 8 Fälle von Wunddiphtherie, die er im Laufe eines Jahres beobachten konnte. Außer der Verschlimmerung der Wunden hat Harms auch eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes feststellen können. Leider vermissen wir in den von Harms angeführten Fällen einen genauen bakteriologischen Befund. Diphtheromorphe Bazillen fand Ninni bei 2 chirurgischen Fällen nicht nur im Eiter, sondern auch im Blut. Wieting, Lichtenstein, Meyer, Spieth, die in den letzten 2 Jahren ihre Arbeiten veröffentlicht haben, erhielten ähnliche Ergebnisse. Endlich berichtet Landau in einer erst vor kurzem erschienenen Arbeit über positive Di.-Befunde in 31 von 170 der von ihm untersuchten Fälle (= 18,2 Proz.).

Wie aus diesen kurzen Angaben zu ersehen ist, gelang es sämtlichen Autoren Di. in den Wunden nachzuweisen, jedoch schwankt die Zahl der positiven Befunde (Weinert 58 Proz., Adami 0,65 Proz.). Wir unterlassen es, hier auf die Ursache der sich widersprechenden Befunde einzugehen, da diese Frage bereits des Näheren in den Arbeiten von Weinert, Dorn, Lubinski, Landau sowie in der Arbeit meines Mitarbeiters Großmann besprochen wird. Betonen möchten wir nur, daß die von den einzelnen Beobachtern vorgenommene Klassifizierung der gefundenen Keime kein einheitliches Bild bietet.

Während einige Autoren nach den klinischen und bakteriologischen Beobachtungen behaupten, daß die in den Wunden gefundenen Bazillen zu der Klasse der echten Di.-Bazillen gehören, haben andere geglaubt, eine scharfe Unterscheidung zwischen echten und Di.-ähnlichen Bazillen machen zu müssen.

Lubinski hat zuerst eine systematische Prüfung der von Wund-Di.-Fällen gewonnenen Kulturen unternommen. Er isolierte 59 Reinkulturen von Patienten mit granulierenden Wunden und fand, daß es sich 18mal um echte Di.- und 41mal um Di.-ähnliche Bazillen handelte, die er als Para-Di.-Bazillen bezeichnete.

In morphologischer Beziehung beschreibt Lubinski die Bazillen als etwas kürzer und plumper als echte Di. und mit runden Enden. Die Bazillen sind grampositiv, meist die Neisserschen Körperchen aufweisend. Sie sind unbeweglich, pallisadenförmig und v-förmig angeordnet, ohne Kettenbildung, nur liegen zuweilen 2 zusammen. Die Para-Di.-Bazillen vergären im Gegensatz zur echten Di. Saccharose und sind stets avirulent für Meerschweinchen.

Rohde spricht diesen Bazillen jede Beziehung zu den Di.-Bazillen ab, schlägt für sie die Bezeichnung Dermophilus vor, da er sie für identisch mit den auf der Haut und im Schleim gefundenen Stäbchen hält. Er unterscheidet 3 Typen: kurze, lange Formen und Xerose-Bazillen.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um die Beziehungen der echten Di.- zu den Di.-ähnlichen Stäbchen zu studieren, habe ich auf Anregung von Frau Prof. Rabinowitsch-Kempner, der ich für ihre Leitung zu Dank verpflichtet bin, es unternommen, eine Anzahl Stämme einer genauen Prüfung zu unterwerfen.

Die Kulturen wurden aus verschiedensten Wunden der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses (Dir. Geh. Rat Borchardt) gewonnen. Ueber das Verhalten der verschiedenen Wunden wird mein Mitarbeiter Großmann an anderer Stelle berichten, ich für meinen Teil möchte mich nur auf die bakteriologischen Untersuchungen beschränken.

Im ganzen wurden 400 Wunden untersucht, ein Teil mehrmals in regelmäßigen Abständen, so daß über 650 Wundabstriche geprüft wurden. Die Ausgangskulturen wurden auf Loeffler-Serum angelegt, 24 bis 48 Std. im Brutschrank gehalten, sodann morphologisch und kulturell weiter geprüft. Von diesen Stämmen zeigten 20 die Eigenschaften der echten Di.-Bazillen.

In 45 Wunden wurden Pseudo-Di.-Bazillen nachgewiesen, in 80 andere, zur Di.-Gruppe gehörende Stäbchen, die wir gleich hier schon als die von Lubinski als Para-Di.-Bazillen gekennzeichneten Stäbchen bezeichnen möchten. In 11 Wunden endlich haben wir sowohl Pseudo- als Para-Di.-Bazillen gefunden.

Es war uns technisch unmöglich, sämtliche gewonnene Stämme gleich eingehend zu studieren, wir haben vielmehr aus der Fülle unseres Materials 14 echte und 20 Di.-ähnliche Stämme herausgegriffen und diese dem eingehendsten Studium unterworfen. Die morphologischen Eigenschaften wurden an ungefärbten (hängenden Tropfen-Tuschepräparaten) und gefärbten (Gram-, Neisser-)Präparaten studiert. Zur Züchtung bedienten wir uns der verschiedensten Nährböden: Loeffler-Serum, Agar, Bouillon, flüssige Nährböden (nach Lubinski) mit Maltose, Lävulose, Saccharose, Laktose, Dextrose, Galaktose und endlich Agar mit 10 Proz. Natriumoleicum (nach Engering). Die pathogenen Eigenschaften wurden an Meerschweinchen sowohl durch subkutane (Bouillonkulturen oder Aufschwemmungen von Loeffler-Serum) wie durch intrakutane Impfung geprüft.

Wir möchten gleich hier hervorheben, daß wir die (zuerst von Römer empfohlene) Intrakutanimpfung, besonders in der Form wie sie letzthin von den amerikanischen Autoren Carollh Bull und Mc Kee empfohlen wird, als sehr geeignet für die Versuche befunden haben. Man kann an jedem Meerschweinchen 4—6 Stämme prüfen.

In Fällen, wo die Gewinnung von Reinkulturen durch Mischinfektion erschwert oder eine rasche Diagnosestellung erwünscht ist, empfiehlt es sich, die Intrakutanimpfung nach dem Vorschlag von Force und Beattie selbst mit den Mischkulturen anzustellen. Von uns vorgenommene vergleichende Untersuchungen haben recht gute Resultate ergeben.

In den meisten der von mir untersuchten Di-ähnlichen Kulturen handelte es sich um Stäbchen, die pallisadenförmig angeordnet, öfter auch in Gruppen oder zu 2 oder V-, L-, Y-förmig gelagert waren. In einem einzigen Fall sah ich die so häufig beschriebene Lagerung gleich chinesischen Buchstaben. Die isolierten Stäbchen waren sämtlich unbeweglich, grampositiv und wiesen in ihrem Inneren meist Babes-Ernstsche Körperchen auf, die in ihrer Größe variabel waren.

Die Bouillon erschien nach 24 Std. klar mit einem dünnen Häutchen an der Oberfläche, spärlichem Bodensatz, der nach 48 Std. mehr oder weniger reichlich, schleimig oder fadenförmig wurde. Auf Loeffler-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum zeigten alle von uns isolierten Kulturen eine üppige Entwicklung schon nach 24 Std. Im Gegensatz aber zu den echten Di.-Bazillen war der weiße Belag dichter, feuchter und weicher.

Auf Agar mit 10-proz. Natriumoleicum blieb bei den echten Di.-Stämmen das Wachstum völlig aus, selbst wenn die Kulturen auch längere Zeit sich im Brutschrank befanden. Dagegen zeigten die Di.-ähnlichen Stämme eine charakteristische Entwicklung; nach 24 Std. kleine, punktförmige Kolonie, deren Durchmesser $\frac{1}{2}$—2 mm war. Die Kolonien sind blaß und zahlreich im tieferen Teil des Nährbodens. Nach 48 Std. zeigen sich die punktförmigen Kolonien stecknadelkopfgroß, oft zusammenfließend, weiß, feucht erscheinend; sie bedecken die ganze Oberfläche des Agars. Die vollkommene Entwicklung ist nach 48—72 Std. erreicht.

Nicht weniger wertvoll erwies sich ferner die Prüfung der Stämme in den zuckerhaltigen, flüssigen Nährböden. Während unsere echten Di.-Stämme sowohl beim Zusatz von Saccharose und Galaktose nie eine Säurebildung zeigten (bei Maltose, Lävulose und Dextrose war das Verhalten inkonstant), zeigten unsere Di.-ähnlichen Stämme stets eine starke Säuerung in Saccharose und ein schwankendes Verhalten in den anderen geprüften Zuckernährböden.

Das Verhalten der Säurebildung gegenüber entsprach der Entwicklung der Stämme auf Natriumoleicum-Agar. Dem Ausbleiben der Säurebildung in Saccharosenährboden ging parallel das Fehlen des Wachstums auf Natriumoleicum-Agar, während bei atypischen Fällen sowohl die Säurebildung in Saccharose wie das Wachstum auf Natriumoleicum-Agar positiv war. Der Natriumoleicum-Nährboden hat uns bei der Differenzierung der Stämme besonders wertvolle Dienste geleistet.

Während die echten Di.-Stämme bei subkutaner Verimpfung an Meerschweinchen stets virulent waren und die charakteristischen Veränderungen hervorriefen, verursachten die Di.-ähnlichen Stäbchen nur ein kleines Oedem an der Impfstelle, welches nach weiteren 24 Std. verschwunden war, eine leichte Drüsenentzündung zurücklassend.

Die Intrakutanimpfung rief nur eine leichte Rötung der Haut mit linsengroßer Schwellung hervor. Nach 48 Std. war die Reaktion vorüber, es stellte sich der normale Zustand wieder ein, nur an der Impfstelle sah man oft noch ein reiskorngroßes, hartes Infiltrat, das nach einigen Tagen völlig resorbiert wurde.

Die echten Di.-Stämme zeigten auch bei der Intrakutanimpfung einen charakteristischen Befund an der Impfstelle: Rötung und Schwellung nach 24 Std., Abschuppen der Epidermis nach 48 Std., kreisförmige Nekrose nach 2—3 Tagen.

Wie bereits an anderer Stelle berichtet wurde, haben wir, um das Wesen der Diphtherieinfektion der Wunden und eine event. Umwandlung der Diphtheriebazillen zu studieren, gemeinsam mit Großmann Wunden mit echten Di. und Di.-ähnlichen geimpft. Wir haben dann zuerst täglich und dann in Abständen die Stämme immer wieder herausgezüchtet und einer genauen Prüfung unterworfen. Wir haben dabei gefunden, daß in manchen Fällen die echten Di. ganz allmählich ihre charakteristischen Eingenschaften eingebüßt und die der Paradiphtherie-Stäbchen acquiriert haben. Gerade bei diesen Passagekulturen hat uns der Agar mit 10 Proz. Natriumoleicum besonders gute Dienste geleistet. Hatten wir z. B. mehrere Generationen nebeneinander, so konnten wir das Fehlen jeglicher Entwicklung in der 1. Generation, das

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

üppige Wachstum z. B. der 6. Generation (nach Aufenthalt der echten Di. von 30 Tagen in der Wunde) und dazwischen alle Abstufungen verfolgen. Entsprechend dem Wachstum auf Natriumoleicum-Agar war auch das Verhalten in den flüssigen Nährböden mit Zusatz von Saccharose, Maltose und Lävulose, das Ergebnis der Meerschweinchenimpfung und das morphologische Verhalten der Bazillen.

Wir haben die allmähliche Umwandlung der echten Di.-Bazillen nicht nur in den von uns geimpften Wunden feststellen können, sondern hatten Gelegenheit, auch bei der Untersuchung spontan infizierter Wunden dieses Phänomen genauer in 2 Fällen zu studieren (eine Umwandlung von Para-Di. in echte Di. dagegen konnten wir nicht feststellen).

Womit es zusammenhängt, daß in der einen Wunde die echten Di. als solche weiter nachweisbar sind, bis ihre Zahl immer kleiner wird und sie, von anderen Keimen verdrängt, eines Tages verschwinden, in der anderen Wunde dagegen eine allmähliche Umwandlung sich genau verfolgen läßt, müssen wir dahingestellt sein lassen.

Von dem einen Fall (Dan.) haben wir in der Zeitspanne von 26 Tagen (nach dieser Zeit wurde der Patient als geheilt entlassen) viele Stämme gewonnen und 5 Stichproben genau geprüft.

Datum	Maltose	Lävulose	Saccharose	Laktose	Dextrose	Galaktose	Agar natr. ol. 10 Proz.	Tierversuch	
								subkut. Probe	intrakut. Probe
7. Febr. 1913	—	±	—	+	+	—	—	+	+
17. „ „	—	+	—	+	+	—	—	—	+
23. „ „	—	+	+	+	+	—	+	—	—
2. März „	—	+	+	+	+	—	+	—	—
5. „ „	—	+	+	+	+	—	+	—	—

Im 2. Falle wiesen die nach 10 Tagen aus der Wunde gewonnenen Stämme nicht mehr die Eigenschaften der echten, sondern der Para-Di.-Bazillen auf[1]).

Fassen wir die von uns gemachten Beobachtungen zusammen, so ergibt sich, daß das morphologische Verhalten, die Anwesenheit der Babes-Ernst-Körnchen, die Entwicklung in Bouillon, auf Loeffler-Serum, keine durchaus zuverlässigen Mittel für die Differentialdiagnose von Di. oder Di.-ähnlichen Stäbchen bietet. Auch die Versäuerung der Saccharose versagt häufig, weil sie einerseits auch in den Di.-Kulturen vorhanden sein kann (Rohde), andererseits auch zuweilen bei den Di.-ähnlichen fehlt (bei unseren Stämmen 3mal).

Selbst die pathogenen Eigenschaften sind kein sicheres Kriterium, denn es gibt bekanntlich virulente und nicht virulente Di.-Stämme (Neisser), und es wurden von zahlreichen Autoren Bazillen beschrieben, die in bezug auf Morphologie und kulturelle Eigenschaften mit dem Loeffler-Bazillus identisch sind, jedoch immer als harmlose Saprophyten sich erwiesen. Um den richtigen Charakter der Di.-ähnlichen Stäbchen und ihre Beziehungen zu den echten Di. zu kennzeichnen, würden wir, gleich Lubinski, vorschlagen, sie Para-Di.-Bazillen zu nennen.

1) Ein ausführlicher Bericht dieser Untersuchungen wird in den „Annali Ital. di Chirurg. Napoli“ veröffentlicht werden.

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Rohde glaubt, wie schon gesagt, daß sie eine andere Bezeichnung erhalten müßten, weil er sie als vollkommen harmlos in den Wunden befunden hat und weil er sie für identisch mit den Keimen erklärt, die zuweilen als harmlose Schmarotzer auf der Haut nachweisbar sind.

Allein, auch die echten Di. können unter Umständen Schmarotzer der Haut sein. Fast alle Autoren haben beobachtet, daß der positive Befund der echten Di.-Bazillen nicht immer einem ungünstigen Krankheitsverlauf entsprach.

Auch unsere oben angeführten Untersuchungen haben gezeigt, daß wir häufig die in Wunden verimpften echten Di.-Bazillen als harmlose Saprophyten bezeichnen mußten, die zuweilen die Heilung der Wunde noch begünstigt haben. Dieses gegenseitige Verhalten der echten Di. und der Para-Di.-Stäbchen müssen wir als eine nahe Verwandtschaft bezeichnen.

Auch ältere Autoren und neuerdings Landau haben auf die nahen verwandtschaftlichen Beziehungen der Di. und Di.-ähnlichen Bazillen hingewiesen. Auf die große Variabilität der Di. und Pseudo-Di.-Bazillen haben bereits seit Jahren viele Autoren ihre Aufmerksamkeit gelenkt. Roux und Yersin machten bereits einen wenig virulenten Stamm virulent, indem sie ihn mit Streptokokken verbanden; Hewlett und Knight sowie Salter machten Pseudo-Di. virulent durch Vogelpassage, Landerdorff hat 1921 die Ergebnisse von Roux und Yersin bestätigt. Meader konnte spontane Veränderungen des Di.-Bazillus in Kulturen beobachten. Corham ist der Meinung, daß Veränderungen möglich sind. Sie hängen von dem Immunitätsgrad der geimpften Tiere ab. Lubarsch beobachtete eine Umwandlung von Di.-Bazillen und Pseudo-Di.-Bazillen. Bernard und Paneth konnten den allmählichen Uebergang von echten Di.-Bazillen in Pseudo-Di. feststellen. Jacobsthal züchtete durch eine besondere Methode aus Leichenblut Di.-Stämme verschiedener Virulenz. Er behauptet, die Umwandlung dieser Bazillen beginne im Organismus der Menschen. Baerthlein hat Umwandlungen durch Züchtung auf den verschiedenen Nährböden feststellen können.

Bezugnehmend auf unsere eigenen oben beschriebenen Versuche sowie auf die Ergebnisse der Untersuchungen anderer Autoren, möchten wir zwei scharf voneinander durch ihre biologischen Eigenschaften zu unterscheidenden Typen aufstellen: Den echten Di.-Bazillus und den Para-Di. Zwischen diesen beiden befinden sich verschiedene Uebergänge.

Es erscheint uns daher nicht ausgeschlossen, daß die Para-Di.-Bazillen, welche so häufig in den Wunden zu finden sind, von echten Di. abstammen.

Man könnte annehmen, daß sie als echte Di.-Bazillen in die Wunden geraten und dort mehr oder weniger rasch Umwandlungen unterworfen sind. So zeigen sie sich dem Beobachter häufig bereits nach der vollzogenen Umwandlung.

Wir wollen uns nicht auf Betrachtungen einlassen, warum in einigen Fällen die Umwandlungen mit überraschender Schnelligkeit vor sich gehen, in anderen sehr langsam, wie wir es beobachten konnten, endlich in einer Anzahl von Fällen die Bazillen ihren Charakter unverändert beibehalten. Die Umwandlung wird wohl vom verschiedenen Grade der Empfindlichkeit oder von der natürlichen Immunität für Di. abhängig sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Fassen wir die Resultate unserer Untersuchungen noch einmal kurz zusammen, so ergibt sich: in den Wunden kommen sowohl echte Di. wie Di.-ähnliche Stäbchen vor. Für die letzteren ist die Bezeichnung Para-Di. am geeignetsten. — Die spontan in den Wunden auftretenden Para-Di.-Bazillen können umgewandelte Di. sein. — Eine Umwandlung von Para-Di. in echte Di. konnte nie beobachtet werden.

Literatur.

Adami, zitiert nach Landau. — Anschütz u. Kißkalt, Münch. med. Wochenschrift. 1919. S. 33. — Balhorn, Beitr. z. klin. Chir. 1921. S. 222. — Baerthlein, Verhandl. d. Mikrobiol. Gesellsch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1913.) — Bernhard u. Paneth, ebenda. — Bull and Mc Kee, The amer. Journ. of Hyg., Vol. 3. 1923. Nr. 2. — Deutschländer, Ztschr. f. Chir. Bd. 115. 1912. — Dorn, Bonn, Ztschr. f. ärztl. Fortbild. 1922. S. 326. — Donges u. Elfeldt, Dtsch. med. Wochenschrift. 1919. S. 545, u. Bruns Beitr. z. klin. Chir. Bd. 3. 1923. S. 562. — Engering, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 120. — Force and Beattie, The amer. Journ. of Hyg. 1922. p. 490. — Gorham, Journ. of Med. Res. Vol. 6. 1921. p. 201. — Harms, Münch. med. Wochenschr. 1920. S. 513. — Hewlett and Knight, Trans. of Jenner Inst. Prev. Med. 1897. — Hock, Berl. klin. Wochenschr. 1919. S. 614. — Hoffmann, Dtsch. Ztschr. f. Chir. 1920. S. 321. — Jacobson, ebenda. 1919. S. 124. — Jacobstal, zitiert nach Paneth. — Kehl, zitiert nach Landau. — Landau, Klin. Wochenschr. 1923. S. 595, u. Arch. f. Chir. 1923. S. 716. — Landerdorff, Ztschr. f. Infekt. der Haustiere. 1921. S. 151. — Läwen u. Reinhard. Münch. med. Wochenschr. 1919. S. 924. — Lichtenstein, Centralbl. f. Chir. 1921. S. 1336. — Lubarsch, Zur Theorie d. Inf.-Krankh. in „Zur Lehre v. d. Geschw. u. Infektionskrankheiten". — Lubinski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1920. H. 2. — Meader, Journ. Inf. Dis. Bd. 25. 1919. p. 145. — Meyer, Ztschr. f. Hyg. 1921. S. 172. — Nieter, Münch. med. Wochenschr. 1912. S. 239. — Ninni, La Riforma media. 1923. Nr. 8. — Paneth, Ztschr. f. klin. Med. 1922. — Powell, The amer. Journ. of Hyg. 1923. p. 107. — Rohde, Bruns Beitr. 1921. S. 132. — Roux et Yersin, Ann. de l'Inst. Past. T. 4. 1890. p. 7. — Salter, Trans. of Jenner Inst. Vol. 2. 1899. p. 113. — Schmid, Münch. med. Wochenschr. 1919. S. 70. — Schugt, ebenda. 1923. S. 598. — Spieth, ebenda. 1921. S. 1146. — Sudek, Thorn, Pawlowski, zitiert nach Lubinski. — Venturelli, Schoenfeld, Tin., Zara, 1920. — Weinert, Münch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 51, u. 1919. Nr. 9 u. 51. — Wieting, ebenda. 1919. Nr. 1. u. Centralbl. f. Chir. 1921. S. 1150. — Zullig, Brnns Beitr. Bd. 82. 1913. H. 3.

Nachdruck verboten.

Erfolge mit Blutkulturen beim Typhus durch längere Bebrütung.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt für die Typhusbekämpfung in Mitteldeutschland beim Hygienischen Institut der Universität Jena.]

Von Dr. **Hage.**

Beim Typhus hat sich die Gallebouillonkultur als die beste Methode zum Bazillennachweis aus dem Blute erwiesen, besonders, wenn sie in den ersten Krankheitswochen zur Anwendung kommt und eine größere

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Menge Blut in Gallebouillonröhrchen aufgefangen wird. In der Praxis werden diese beiden Bedingungen aber nicht immer erfüllt, häufig wird das Blut den Untersuchungsanstalten erst in der 2. oder 3. Krankheitswoche oder gar noch später eingeschickt und nicht in größerer Menge ungeronnen in Gallebouillon, sondern als kleiner oder kleinster Blutkuchen oder in einem Tupfer aufgefangen. Natürlich können dann die Untersuchungsergebnisse nicht ganz so günstig sein. Mit geringen Blutmengen muß sich die Untersuchungsanstalt aber abfinden und solange versuchen, aus dem eingegangenen Materiale das Bestmögliche herauszuholen, bis die Kenntnis von der zweckmäßigsten Einsendung von Untersuchungsmaterial Allgemeingut der Aerzte geworden ist. Im Kriege wurde nun die Beobachtung gemacht, daß bei Schutzgeimpften, die einen Typhus bekamen, die Blutkultur versagte, oder erst nach längerer Bebrütung als 2—3 Tage, die früher als ausreichend angesehen wurden, ein Wachstum der Typhusbazillen zeigte. Es wurde angenommen, daß die durch die Schutzimpfung hervorgerufenen Immunkörper erst von den Typhusbazillen überwunden werden müßten und hierin die Ursache dieser Verzögerung zu suchen sei. Ob diese Ansicht völlig zu Recht besteht, erscheint zweifelhaft, zumal die Ergebnisse bei Geimpften und Ungeimpften nicht überall gleichmäßig sind, Ledingham[1]) hat z. B. gefunden, daß bei Schutzgeimpften und nicht Geimpften kein Unterschied hinsichtlich des Grades und der Dauer der Bakteriämie vorhanden ist und Blutkulturen also in beiden Fällen gleich gute Ergebnisse versprechen. Die Erfahrungen bakteriologischer Untersuchungsämter sprachen dafür, daß durch eine längere Bebrütung der Blutkuchen auch bei Ungeimpften bessere Ergebnisse zu erzielen waren. — In dem Untersuchungsamt Cuxhaven wurde von mir schon die Gallebouillon etwa 8 Tage bebrütet, und das Gleiche war in dem Bakteriologischen Institut Jena (nach mündlicher Mitteilung von Geheimrat Abel) und vielleicht auch anderwärts der Fall. Eine noch längere Zeit fortgesetzte Bebrütung von Blutkuchen oder Bluttupfern ist an einer Reihe von Typhusfällen, bei denen keine Schutzimpfung vorhergegangen war (nur in einem Falle eine Typhuserkrankung 6 Jahre zuvor), ausgeführt und hat folgendes Ergebnis gezeitigt.

In der nachstehenden Tabelle sind nur positive Züchtungen aufgeführt und vermerkt, nach wievielstündiger bzw. -tägiger Bebrütung die Bazillen nachgewiesen wurden.

Wir sehen, daß in der 1. Krankheitswoche die Züchtung der Typhusbazillen vorwiegend schon nach 24-stünd. Bebrütung gelungen ist, aber auch noch eine Anzahl positiver Ergebnisse erst nach 48-stünd. oder längerer Bebrütung erzielt ist, sogar noch nach 15 und 18 Tagen (länger als 20 Tage ist die Bebrütung nicht fortgesetzt). Deutlicher wird der Unterschied in der 2. Krankheitswoche sowohl zugunsten der 48-stünd. als auch der längeren Bebrütung, die in einem Falle wieder erst am 18. Tage erfolgreich war. In der 3. Krankheitswoche führt fast in der Hälfte der Fälle erst die längere Bebrütung zum Ziele. Für die 4. Krankheitswoche ist die Zahl der Fälle zu klein, um Schlüsse aus ihr ziehen zu können.

Das gleiche Verfahren der lange fortgesetzten Bebrütung ist für eine Anzahl Blutproben angewendet, die schon in Galle aufgefangen eingeschickt wurden. Hierbei zeigte sich, daß die längere Bebrütung

1) Lancet. 1921; rf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 74. S. 41.

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Zahl der Fälle	Krankheitswoche	Bluttupfer oder Blutkuchen 24-stünd. Bebrütung	48-stünd. Bebrütung	Bebrütung über längere Zeit		
23	I	15	3	5	3 Tage	1
					9 ,,	1
					10 „	1
					15 „	1
					18 „	1
32	II	16	8	8	8 „	2
					9 „	1
					10 „	2
					14 „	2
					18 „	1
23	III	8	5	10	5 „	1
					7 „	1
					10 „	7
					12 „	1
9	IV	4	4	1	13 „	1

keinen Vorteil bot. Von 14 Fällen der 1. Krankheitswoche waren nach 24 Std. 9, nach 48 Std. 4 und nach 3 Tagen noch 1 Kultur positiv. Von 13 Fällen der 2. Krankheitswoche waren nach 24 Std. 11, nach 48 Std. 2 positiv, in einem weiteren Falle dieser Krankheitswoche war das Blut im Natriumcitrat aufgefangen und wurde in Gallebouillon nach 24 Std. positiv. In der 3, und 4. Krankheitswoche wurden 2 Fälle nach 24 Std. und 1 Fall nach 48 Std. positiv.

Von Paratyphus B-Kranken sind Blutproben nur von 7 Fällen der 1. Krankheitswoche untersucht, von denen 5 Fälle schon nach 24-stünd. Bebrütung, 1 Fall nach 48-stünd., und 1 Fall nach 8-täg. Bebrütung positiv wurde. Für die weiteren Krankheitswochen liegt nur noch 1 Fall der 2. Krankheitswoche vor, der nach 24-stünd. Bebrütung positiv war.

In einer Anzahl der Fälle ließen sich mehrfache Blutuntersuchungen bei demselben Kranken vornehmen. Bei 5 Kranken waren die Blutkuchen negativ, bei erneuter Blutentnahme nach 2, 3, 4, und 2mal 5 Tagen dagegen positiv. In 2 Fällen war die Züchtung aus dem Blutkuchen negativ, eine 5 Tage später eingeschickte Blutprobe in Gallebouillon dagegen positiv. In 1 Falle wurden sowohl aus dem Blutkuchen als auch aus dem gleichzeitig in Gallebouillon aufgefangenen Blute nach 24-stünd. Bebrütung Typhusbazillen gezüchtet, dagegen in einem weiteren Falle aus dem Blutkuchen erst nach 5-täg. Bebrütung, während das gleichzeitig in Gallebouillon eingeschickte Blut schon nach 24-stünd. Bebrütung Typhusbazillen aufwies.

Die Erklärung für die Verzögerung und erst nach längerer Zeit noch erfolgreichen Zfichtung der Typhusbazillen aus dem ungeronnenen Blute oder dem Blutkuchen ist wohl hauptsächlich in den angewendetan Mengenverhältnissen zu suchen. Kirstein[1]) hat 1mal die Blutkuchen gewogen und dabei gefunden, daß die Aussicht des Typhusbazillenbefundes mit der Schwere bzw. Größe des Blutkuchens nicht unerheblich wächst. Daneben mag die Einschließung und dadurch verzögerte Auskeimung der Bazillen aus den geronnenen Blutkuchen noch eine Rolle spielen, wie auch die besseren, von Kirstein mit der Verdauung der

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59.

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Blutkuchen durch Trypsin gewonnenen Ergebnisse zeigen. (Hier sind keine Versuche mit der Verdauung der Blutkuchen angestellt, weil dazu ebenfalls größere Blutmengen (1—2 ccm) notwendig sind.) Die Bakterizidie des Blutkuchens kommt nur insofern in Betracht, als durch sie jedenfalls nur an den dem Serum zugänglichen Stellen die Typhusbazillen abgetötet werden, im Inneren des Tupfers oder Blutkuchens dagegen nicht. Jedenfalls ist aus den erzielten Ergebnissen zu entnehmen, daß das Auffangen des Blutes in Gallebouillon (oder in Galle und nachträglichem Zusatz von Bouillon) die beste Methode zur schnellen Züchtung der Typhusbazillen ist, daß aber auch aus Bluttupfern und Blutkuchen, bei denen häufig nur sehr geringe Mengen zur Untersuchung gelangen, noch in einer großen Anzahl von Fällen, auch wenn keine Schutzimpfung vorhergegangen ist, besonders in der 2. und 3. Krankheitswoche, noch Typhusbazillen gezüchtet werden können, wenn die Bebrütung über längere Zeit als 2—3 Tage fortgesetzt wird.

Vielleicht liegt hierin die Erklärung dafür, daß Küster[1]) fand, scheinbar seien die sogenannten Bluttupferröhrchen für die kulturelle Weiterverarbeitung nicht zu verwenden.

Weiter wurde der Frage Beachtung geschenkt, ob die Höhe des Agglutinationstiters bei den zu den Bluttupfern oder Blutkuchen gehörigen Seren einen Anhalt für die Aussichten der Züchtung abgeben könnte, indem angenommen werden mußte, daß bei negativem oder in geringem Maße positiven Widal als Ausdruck der erst beginnenden Typhuserkrankung eine größere Anzahl Blutproben positiv und bei höherem Agglutinationstiter, also länger bestehendem Typhus, das Umgekehrte der Fall sein müßte. Die nachstehende Uebersicht gibt über die vorgenommenen Agglutinationen und die entsprechenden Züchtungen Aufschluß:

Widal	Züchtung nach 24 Std.	Züchtung nach 48 Std.	Züchtung nach längerer Zeit
negativ	7	3	5
1:50	6	—	2
1:100	4	2	4
1:200	18	5	5
1:300	1	—	—
1:400	11	6	5
1:800	1	—	—
1:1000	—	—	1
1:1600	—	1	—

Wir sehen, daß den negativen oder schwach positiven Seren durchaus keine größere Zahl der positiven Züchtungen entspricht, als denen mit einem höheren Agglutinationstiter, aus der Höhe des Widals sind daher keine Voraussagen für eine eventuelle Züchtung der Typhusbazillen zu treffen.

1) Hyg. Rundsch. 1908.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die Bakterien des Blutes beim Typhus exanthematicus.

[Aus der Abteilung für Epidemiologie des Instituts für experimentelle Medizin in Petersburg (Leiter: Prof. Dr. D. Zabolotny).]

Von Dr. **K. Gluchow** und **Z. Rosenbaum.**

1868 stellte Hallier (1) die ersten experimentellen Untersuchungen über den Typhus exanth. an, die jedoch an strenger Genauigkeit zu wünschen übrig ließen. 15 Jahre darauf veröffentlichte Mott seine Forschungen darüber und 1888 taten Moreau und Cochez desgleichen. Im Laufe der letzten Jahrzehnte läßt sich eine Anhäufung der Literatur über diese Frage beobachten. — In der Forschung nach dem Krankheitserreger entdeckte man im Blut, Urin, in Exkrementen und anderen Organen verschiedene Bakterien und Protozoen. Unsere Arbeit ist jedoch nicht den Protozoen, sondern ausschließlich den Bakterien gewidmet, und zwar nur vom serologischen Standpunkt aus. — Die bakteriellen Befunde beim Typhus exanth. lassen sich in 2 Gruppen einteilen: Mikrokokken und Bazillen, resp. Diplobazillen (außer der Rickettsia Prowazeki). — Bis zur letzten Zeit galt es in der Bakteriologie als Regel, daß der Erreger der betreffenden Krankheit unter anderem die Fähigkeit haben soll, sowohl mit dem Serum desselben Kranken, von dem er entnommen war, zu agglutinieren als auch mit den Sera von Kranken, die an der betreffenden Krankheit gelitten hatten. Von diesem Standpunkte ausgehend, betrachteten viele Autoren gewisse, Flecktyphuskranken entnommene Bakterien als Krankheitserreger und die Literatur zählt bereits mehrere Arbeiten auf, die solche „Pseudoerreger" verschiedenster Form beschreiben (vom kleinsten Micrococcus bis zum Stäbchen), und zwar mit verschiedenen Agglutinationstitern und auf verschiedenen Nährböden kultiviert. Schon diese Mannigfaltigkeit läßt die Richtigkeit der „Funde" bezweifeln. Den höchsten Agglutinationstiter zeigt der 1915 entdeckte Proteus X 19, dessen Titer sich mitunter der Zahl 1:100000 nähert und sie sogar übersteigt. — Unter den bakteriologischen Befunden beim Typhus exanth. sind die Bazillen von Rabinowitzsch, Fürth, Beresneff (2), von Sawateeff u. Lochow (3), Nedrigailoff (4), die Mikrokokken von Levaschoff (5), Matschinsky, Goldenstein (6) und Czernel (7), sowie das anaërobe Stäbchen von Plotz und Olitzky (8) zu erwähnen. Sämtliche aufgezählten Bakterienstämme wurden mit den Seris der Flecktyphuskranken in der Potenz von 1:40—1:2000 und höher agglutiniert. Diese morphologisch oft ganz verschiedenen Stämme, die unter ungleichen Bedingungen gewonnen waren, besaßen alle die Fähigkeit, mit dem Serum der Flecktyphuskranken zu agglutinieren. Czernel hält alle diese scheinbar verschiedenen Bakterien für polymorphe Formen eines Erregers. Jedoch ist dies sehr zweifelhaft, und zwar um so mehr, als diese verschiedenen Stämme sich nicht nur durch ihre Form, sondern auch durch ihr Verhältnis zur Gram-Färbung, zum anaëroben Wachstum, den verschiedenen Nährböden usw. unterscheiden. Im Laufe dieser Arbeit wird die Haltlosigkeit der Ansicht v. Czernel noch bewiesen werden. Nach Friedberger (9) ist der Typhus exanth. ein Sammelbegriff. Er versteht darunter von verschiedensten Ursachen hervorgerufene Erkrankungen und ist der Ansicht, daß in jedem einzelnen Krankheitsfalle ein besonderer Erreger zu finden sei, was so paradox ist, daß eine Erwiderung überflüssig erscheint. Jedenfalls muß angenommen werden, daß die von den verschiedenen Autoren entdeckten Bakterien nicht zu ein und derselben Klasse gehören, obwohl ihnen gewisse gemeinsame Eigenschaften zukommen, wie z. B. die Agglutination mit den Seris der Flecktyphuskranken.

In der Mitteilung von Prof. D. Zabolotny und Dr. A. Beloussoff über ihre gemeinschaftlichen Forschungen in Galizien 1914—15 heißt es unter anderem: „Es lassen sich bei der Blutaussaat oft Mikroorganismen entdecken, die eine komplizierte Infektion verursachen und die Entstehung von spezifischen Antikörper im Blut der betreffenden Kranken hervorrufen können."

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seit der zweiten Hälfte des Jahres 1918 haben wir auf Aufforderung von Prof. D. Zabolotny zahlreiche Bluntuntersuchungen bei Flecktyphuskranken angestellt und mikroskopisch einzelne Gewebestückchen der an dieser Krankheit gestorbenen Individuen untersucht. Die vorliegenden Mitteilungen stellen nur einen Teil der Gesamtarbeit dar. Das Untersuchungsmaterial stammt aus den Petropawlowsky- und Botkinsky-Krankenhäusern, vor allem aber dem 255. Stadtlazarett in Petersburg. Die klinische Diagnose war vorher festgestellt. Wir untersuchten nur Kranke, die untrügliche Kennzeichen des Flecktyphus zeigten. Das Blut wurde zwischen dem 3.—22. Krankheitstage (durchschnittlich am 7.—9. Tage) mittels steriler Rekordspritze aus der Cubitalvene genommen. Ein Teil desselben wurde auf verschiedene Nährböden ausgesät, der Rest zur Koagulierung gebracht oder zentrifugiert und das Serum zur Weil-Felix-Reaktion verwendet (s. Mitt. a. d. Konferenz üb. d. Typhus exanth. am 16. Febr. 1920).

Das Blut wurde zuerst auf gew. Bouillon, Aszites und physiol. NaCl-Lösung ausgesät. Später wurden die Nährböden modifiziert, z. B. Bouillon + Aszites im Verhältnis von 3 : 1 oder 3 : 2, und zur Bouillon wurden kleine Mengen von Lezithin und Natrium phosphatum zugefügt. Außerdem benutzten wir halbkoagulierte Blutsera (nach Schereschewsky) und Pferdeblutsera, denen $^1/_3$ Salzlösung beigemischt war; auch Gallenbouillon wurde gebraucht.

Die anaërobe Aussaat nach Plotz wurde folgendermaßen dosiert: 2 Proz. Agar, $^1/_4$—$^1/_5$ Aszites oder Bouillon und 2 Proz. Zuckergehalt, 1 Proz. Säuregehalt.

Tabelle 1.

Die Ergebnisse der Blutaussaat der Flecktyphuskranken.

Zahl der Kranken, mit deren Blut die Aussaat gemacht wurde	Prozentzahl der positiven Resultate in bezug zur Gesamtzahl der Kranken	Gesamtzahl der Aussaaten	Der bakterielle Befund			Prozentzahl der positiven Aussaaten	Prozentzahl der negativen Aussaaten	Mißlungene (verunreinigte)
			Becken	Stäbchen	Summe			
194	64 Proz.	642	68	22	90	14 Proz.	84 Proz.	2 Proz. (13 Fälle)

Was die flüssigen Nährböden anbetrifft (Bouillon, Aszites, physiolog. Salzlösung), so wurden sie in gewöhnlichen Reagenzgläschen a 10—12 ccm verteilt. Jedem Röhrchen wurde alsdann etwa 1 ccm Blut (oft weniger) zugesetzt. Später nahmen wir Erlenmeyer-Kölbchen von 60—80ccm Inhalt, dem 1—5 ccm Blut hinzugefügt wurden. Die für aërobes Wachstum bestimmten flüssigen und halbfesten Nährböden wurden mit aller Vorsicht am Krankenbett besät, bei 37° C in den Brutschrank gebracht und nach Ablauf von 1—3 Tagen wurden die Ergebnisse notiert. — Die Aussaaten nach Plotz erfolgten im Laboratorium, wohin das Blut in Erlenmeyer-Kolben gebracht wurde. Letztere waren mit Glaskügelchen versehen, mit denen das Blut vor der Aussaat defibriniert wurde, oder es wurde in die Kolben eine geringe Menge von zitronensaurem Natrium hinzugefügt. — Die anaërobe Aussaat (nach Plotz) erfolgt folgendermaßen: es wurde in 15 ccm große Reagenzgläschen 2-proz. Zuckeragar von 0,9—1,1 Säuregehalt verteilt. Darauf wurde das Medium erwärmt und wieder bis 40° bis 45° erkalten gelassen, worauf ca. 5 ccm Aszites zugegossen wurden, der keine Galle enthalten sollte, und sorgfältig auf seine aërobe und anaërobe Sterilität geprüft worden war. Nun wurden mit einer sterilen Pipette 2—5 ccm Blut hinzugefügt, der besäte Agar schnell erkaltet und mit gewöhnlichem Agar überschichtet, der die Aussaat vor eventuellem Eindringen der Luft schützen sollte. Die Bebrütung geschah, wie

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gewöhnlich, bei 36°—37° C und die Beobachtungen erfolgten im Laufe von 20—25 Tagen. Aussaaten mit bloßem Blut der Kranken wurden unter Hinzufügung von Hirudin (um Koagulieren zu vermeiden) gemacht. Das Hirudin bezog ich im trockenen und nicht sterilem Zustande, weshalb ich genötigt war, es in physiol. Salzlösung aufzulösen und letztere durch eine Chamberland-Kerze zu filtrieren. Eine kleine Menge des betreffenden Filtrates wurde nun in die Erlenmeyer-Kolben gebracht, in denen das Blut ausgesät werden sollte. Das mit Hirudin versehene Blut (in Mengen von 5—12 ccm), welches wirklich nicht koagulierte, wurde, wie gewöhnlich, in den Brutschrank gebracht und beobachtet. Aussaaten mit Hinzufügung von zitronensaurem Natrum erfolgten in derselben Art und Weise wie beim Gerudin. — Die Aussaaten auf Gallenbouillon im Verhältnis von 3:1 wurden in Erlenmeyer-Kolben mit 35—40 ccm des Mediums, und 3—4 ccm Blut gemacht. Parallel den Aussaaten wurde das Blut stets im Ultramikroskop untersucht.

Im ganzen wurde das Blut von 202 Kranken untersucht und bei manchen wurden die Blutproben wiederholt. Wie erwähnt, wurden nur typische Kranke untersucht, bei denen Ausschlag und hohes Fieber deutlich ausgesprochen waren, und die keine anderen Entzündungserscheinungen an sich trugen, worauf besonders geachtet wurde, weil man beim Komplizieren der Infektion, z. B. mit Pneumonie, im Blute öfters große Mengen von Kokken und anderen Bakterien findet. Die Beobachtung der Aussaaten auf flüssigen und halbfesten Medien erfolgte vom 1. Tage an. Sobald sich die geringste Veränderung oder Trübung des Mediums zeigte, wurden mikroskopische Präparate mit Doppelfärbung (Gram und Fuchsin oder Methylenblau) angefertigt.

Wurden im Präparate Bakterien im Laufe der ersten 24 Std. entdeckt, so vermutete man Keimung, weshalb der Fall besonders sorgfältig kontrolliert wurde. Im großen ganzen fanden sich nur einzelne Verunreinigungen. Tabelle 1 faßt alle Funde und Keimungen zusammen. In 46 Proz. aller Fälle (nach Tab. 1) wurden im Blute der Flecktyphuskranken die verschiedensten Bakterien entdeckt. Nahezu dasselbe Prozentverhältnis zeigten auch die Untersuchungen von Rosenberg (10) 32 Proz. — Ich isolierte im ganzen 11 Stämme, die von Seris der Typhuskranken agglutiniert wurden, und 6 Stämme, die sich nicht agglutinieren ließen. Auf flüssigen und halbfesten Medien (wie Bouillon, Bouillon-Aszites und Bouillon + Lezithin + phosphorsaures Natrium, halbkoagulierte Blutsera mit und ohne Salzlösung) zeigte sich Wachstum der Bazillen meistenteils bereits am 3.—4. Tage. Gewöhnlich trübte sich die Aussaat in den ersten Tagen etwas, um später sich wieder aufzuklären (Fälle mit Mikrokokken), oder die Trübung nahm zu (bei Stäbchenwachstum). Klärte sich die Trübung am 3.—4. Tage auf, so mußte die Kultur sofort überimpft werden; denn, wo dies nicht geschah, war am 7.—10. Tage die Ueberimpfung nicht mehr möglich, da die Bakterien eingingen.

Ich stellte wiederholt folgende Experimente an: angenommen, daß Reagenzgläschen A und B gleich üppiges Wachstum einer morphologisch durchaus ähnlichen Bakterienrasse zeigten, klärt sich nach Verlauf von 3—4 Tagen das Medium auf. Die Kultur aus A wird auf festen Nährboden überimpft, nicht aber die aus B. Nach 4, 5, 6 Tagen werden Kontrollimpfungen und mikroskopische Untersuchungen gemacht. In den ersten 5—7 Tagen sind Ueberimpfungen aus B noch möglich, später nicht mehr und die mikroskopischen Präparate zeigten immer eine geringere Anzahl von Bakterien. Am Ende der 2. Woche war bereits keine Spur von Bakterien mehr zu finden. Dagegen blieben die Kulturen in den Reagenzröhrchen, in denen die Trübung crescendo zunahm, weit länger am Leben.

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Ueberimpfung vom flüssigen Medium wurde anfangs auf gewöhnlichen Agar gemacht, bis ich sah, daß mehrere Bakterien sich auf diesem Nährboden nicht kultivieren lassen. Nun säte ich parallel auf Blut- und Aszitesagar halbkoaguliertes Blutserum und nach Loeffler, wodurch es mir gelang, noch einige Stämme zu isolieren.

Was das anaërobe Wachstum nach Plotz anbetrifft, so beobachtete ich nach Verlauf der ersten 5—6 Tage Koloniewuchs, 2 cm hoch über dem Niveau des Agars. Jedoch entwickelten sich bei dieser Methode von 20 Aussaaten nur 2 zu regelrechten Kolonien. Im 1. Falle isolierte ich ein Stäbchen. Die Kolonie, der er entnommen wurde, sah der von Plotz beschriebenen sehr ähnlich; das Stäbchen selbst ging in der 2. Generation zugrunde.

Im 2. Falle zeigten sich am 8. Tage in einer Tiefe von 4 cm von den Reagenzgläschenwänden interessante, entschälten Buchweizenkörnern ähnliche Kolonien mit opaker Färbung und dreiseitigen Konturen. Der Querschnitt glich einem dreiseitigen Prisma oder einem Stern. Der Blutagar war 2—3 mm in der Umgebung der Kolonie stark verändert, aufgeklärt und das Blutpigment total verschwunden. Im Wachstum und der Veränderung der Medien glichen auch diese Kolonien den von Plotz beschriebenen.

Das Reagenzröhrchen wurde abgebrochen, und, um die Kolonien zu erhalten, wurden aërobe und anaërobe Ueberimpfungen auf gewöhnlichem-, Blut- und Zuckeragar gemacht (letzteres nach Omeljansky). Außerdem wurden verschieden gefärbte mikroskopische Präparate angefertigt. Es zeigte sich dabei, daß die zierlichen, „buchweizenkörnigen" Kolonien aus ziemlich großen Kokken bestanden, die unter aëroben und anaëroben Bedingungen ein weißliches Häutchen entwickelten, gramnegativ waren und mit den Seris der Flecktyphuskranken nicht agglutiniert wurden.

Mit einer Platinöse der unverdünnten Kultur wurde eine weiße Versuchsmaus ins Cavum peritonei infiziert. Nach Ablauf von 14 Tagen war das Tier noch wohlauf und gesund und reagierte überhaupt sehr wenig auf diese Injektion. Ich bin absichtlich näher auf das Isolieren der Stämme nach Plotz eingegangen, weil es im Laufe meiner Arbeit noch erwähnt werden wird.

Das Blut war, wie erwähnt, 202 Kranken entnommen worden, bei 8 wurde keine Aussaat gemacht. Anfangs wurde auf je 3 Nährböden ausgesät und im ganzen wurden 642 Aussaaten auf den verschiedenen Medien gemacht. Tabelle Nr. 2 zeigt uns die Ergebnisse.

Tabelle Nr. 2.

Die Zahl der Aussaaten auf verschiedenen Nährböden.

Gesamtzahl der Kranken, deren Blut versät wurde	Aszites	Bouillon (Bouillon + Lezithin und ähnl.)	Physiol. Salzlösung	Girudin	Zitronensaures Natrium	Blutserum	Nach Plotz	Gesamtzahl
194 Kr.	194	194	194	21	11	8	20	642

Die 17 isolierten Bakterienstämme wurden nun auf ihre Agglutinabilität mit den Seren der Typhuskranken geprüft (positiv zeigten sich 11 Stämme) und, falls der betreffende Stamm nicht unter 1 : 40—50 reagierte, wurden mit ihm weitere Untersuchungen angestellt (auf ver-

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

schiedenen Medien und auch an Versuchstieren). Aus Mangel an Tieren wurde nur an weißen Mäusen experimentiert und zwar, in sehr bescheidenem Maßstabe. Erwiesen sich einzelne Bakterienstämme bei der Prüfung auf verschiedenen Nährböden als identisch, so wurden die Schlußuntersuchungen nur mit einem Vertreter der identischen Stämme ausgeführt (ausgenommen Nr. 171, 173 und 174). Die Zusammenfassung aller Ergebnisse der Isolation und Agglutination der einzelnen Bakterien zeigt Tab. 3, in der auch die verschiedenen Reaktionen des Tierorganismus auf die Injektion der einzelnen Stämme eingezeichnet sind. Sie zeigt, daß außer Nr. 171, 173, 174, die einer Bakterienrasse angehören, die übrigen Funde sich morphologisch, wie auch in ihrem Wachstum auf den Medien, besonders auf verschiedenen Zuckern, festen und flüssigen (Barsikoff)-Substanzen, grundverschieden verhielten.

Diese Tabelle beweist am besten die Unrichtigkeit der Ansichten von Czernel. Die von mir aus dem Blute der Typhuskranken isolierten Bakterien, deren U-Stämme die Serumreaktion gaben, wurden mehrmals auf ihre Agglutinabilität geprüft, und zwar wurde jeder einzelne Bakterienstamm mit 3–7 Seris von verschiedenen Kranken agglutiniert und gab beständig positives Resultat in verschiedenen Verdünnungen. Tabelle Nr. 4 zeigt die Ergebnisse meiner Untersuchungen, wobei die höchsten Verdünnungen angegeben sind. Die betreffenden Bakterienstämme wurden ebenfalls mit den Seren anderer (nicht Typhuskranker) auf ihre Agglutinabilität geprüft, und zwar mit den Seris von 3 Dysenterikern, Tuberkulösen, gesunder Menschen wie auch mit denen von toten, an Hirngeschwülsten gestorbenen Menschen (im ganzen mit 5—6 verschiedenen Seris). Sämtliche gezüchteten Bakterienstämme reagierten negativ auf alle diese fremden Sera, mit Ausnahme von Nr. 187, die mit einem Dysenterieserum agglutinierte (1 : 20). (Siehe Tabelle Nr. 4, S. 38.)

Meine 11 Bakterienstämme ließen sich mit den Typhusseris in einem Titer von 1 : 40—1 : 2000 agglutinieren; die Möglichkeit eines höheren Titers ist nicht auszuschließen, da größere Verdünnungen nicht gemacht worden sind. Morphologisch sind die einzelnen Stämme (außer den 3 erwähnten Nummern) so verschieden, daß ihre Zugehörigkeit zu ein und derselben Rasse, trotz Czernel, unmöglich ist.

Auf Grund der vielfältigen Untersuchungen auf den verschiedensten Nährböden und des Verhaltens zu den Versuchstieren (Mäuse) kann es sich (wie Tab. 3 zeigt) bei Nr. 17 nur um den Streptococcus liquefaciens ilei handeln, der zuerst von Macfadyen, Nencky und Sieber beschrieben worden ist, die ihn im Safte einer Dünndarmfistel beim Menschen entdeckten; er wurde aber erst später von Jakowsky (11) genau beschrieben (Arch. f. biol. Wissensch. Bd. 1. 1892. H. 3. S. 574). Bei Nr. 127 handelt es sich um den Bac. liquefac. ilei, der von denselben Autoren wie Nr. 17 beschrieben worden ist; Nr. 127_1 ist Hausers Proteus 19 x (12), Nr. 171 ein Stäbchen, das dem v. Rabinowitsch beschriebenen Typus ähnlich ist (14). Nr. 173 und 174 sind mit Nr. 171 völlig identisch. Die Diagnose von Nr. 187 konnte wegen Mangels an Literatur nicht festgestellt werden. Nr. 189 ist ein dem Rabinowitschschen Bazillus ähnliches Stäbchen, während Nr. 198 keinem der bisher bekannten Stäbchen ähnelt. Nr. 199 ist der Diplococcus albus intestinorum, der zuerst von Jakowsky beschrieben worden ist (Arch. f. biol. Wissensch. 1892. S. 562), Nr. 202 ist dem Paratyphus B sehr ähnlich, doch steht die Diagnose noch nicht fest.

Die kulturellen Merkmale eines Teiles dieser Bakterienstämme, wie Nr. 17, 127, 127_1, 199, beweisen, daß es sich unbedingt um Darmbewohner handeln muß, die als solche bereits beschrieben waren. Ein anderer Teil der isolierten Stämme gehört dem Rabinowitschschen Bazillentypus an und wurde von Prof. Korschun (14) als pseudo-

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nr.	17	127	127_1	171	173	1
Form und Größe.	Kleiner Kokkus 0,5 bis 0,7 μ. Einzeln oder in kettenartigen Verbänden	Kurzstäbchen. L. 0,8 bis 1,0, Br. 0,5 bis 0,6.	Kleines polymorph. Stäbchen. L. 1,0 bis 1,5, Br. 0,5 bis 0,8.	Kleines Kurzstäbchen. L. 0,8–1,2, Br. 0,6–0,7.	Wie 171	Wi
Bewegung.	+	Lebhafte Eigenbewegung.	+	—	—	-
Gramfärbung	+	—	—	+	+	-
Wachstum auf gewöhnlichem Agar.	Ein gutes. Entwickelt ein fettigglänzendes Häutchen, das in alten Kulturen matt wird und sich krem färbt.	Gutes. Entwickelt ein feines, glänzendes Häutchen, das mit der Zeit gelblich wird.	Ueberzieht rasch die ganze Agaroberfläche mit einem weißen, mittelstarken Anflug.	Sehr spärliches. Kaum sich Fadenbeläge, chagrint und scharfkonturiert. wickelt auf dem Blutagar weißlichen, milchartigen U zug.		
Wachstum auf Glyzerinagar.	Ueppiges Wachstum gelb - rötlicher Farbe.	Feiner, weißlicher, kaum bemerkbarer Ueberzug.	Mittelstarker, glänzend - weißer Ueberzug.	Spärliches Wachstum. Ste weise treffen sich kon weißliche Punktkolonien.		
Wachstum auf Zuckeragar (Stichimpfung).	Entwickelt eine weißlich-gelbliche Rosette längs des Stiches und an der Oberfläche. Keine Gasentwicklung.	Entwickelt ein scharfkonturiertes, gelblich-weißliches Häutchen längs des Stiches und an der Oberfläche. Keine Gasproduktion.	Entwickelt sich gleichmäßig spärlich, wie an der Oberfläche, so auch in der Tiefe. Das Medium wird durch Gas zerrissen.	Längs des Stiches ein unbe tendes Wachstum. Keine produktion.		
Wachstum auf der Bouillon.	Allgemeine Trübung. Niederschlag am Gefäßboden.	Allgemeine Trübung. Weißer Niederschlag.	Starke Trübung. Niederschlag.	Keine Trübung. Flokkenartiger Niederschlag.	Kein Wachstun noch Trübun	
Bouillon + Lezithin + phosphorsaures Natrium.	Allgemeine Trübung. Klebriger Niederschlag am Gefäßboden.	Keine Trübung. Flockenartiger Niederschlag.	Allgemeine Trübung.	Keine Trübung.		
Auf Kartoffeln.	Ueppiges, fettigglänzendes Wachstum.	Ein üppiges, dickes, glänzendes Häutchen.	Ein sehr üppiges. Ueberzieht die Kartoffel von allen Seiten u. schwärzt sie darunter.	Kein Wachstum.		
Auf der Milch.	Gerinnung am Ende der 3. Woche. Durchsichtiges Serum.	Keine Gerinnung.	Gerinnung am 3. Tag. Durchsichtiges, flüssiges Serum. Kompakter Niederschlag.	Keine Milchgerinnung.		
Auf der Gelatine.	Langsame Verflüssigung.	Verflüssigt die Gelatine, die aber ihre Durchsichtigkeit dabei nicht verliert. Nach 3 Mon. eine geringe Trüb.	Rasche gleichmäßige Verflüssigung von der Oberfläche angefangen.	Keine Verflüssigung. Spärlic Wachstum in der Tiefe kleinen Punktkolonien. T bung der Gelatine.		

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

'3.

173	187	189	198	199	202
ie 17	…rzstäbchen. L. 0,8 …is 1,5, Br. 0,3 …is 0,5.	Polymorphes Stäbchen. L. 0,8—1,2, Br. 0,6—0,7.	Kurzstäbchen. L. 1,3 bis 2,0, Br. 0,4 bis 0,6.	Mittelgroßer Coccus Gr. 0,6—0,8.	Kleines Kurzstäbchen.
—	—	—	Unbedeutende Eigenbewegung.		
+	+	+	+	+	+
Kam… ch… tur… Blu… artig…	…n gutes. Ueber…icht mit gleichmäßigem, weißem, mittelstarkem, glänzendem Anflug der Oberfläche.	Kein Wachstum. Entwickelt auf dem Blutagar ein feines, mattes Häutchen.	Ein gutes. Aeltere Kulturen produzieren ein rosiges Pigment.	Wächst anf. nicht. Später entwickelt sich ein weißfarb., mittelstarker Anflug.	Wächst anf. nicht. Später entwickelt sich ein durchsichtiges, feines Häutchen.
um. ich olonie	…nfangs spärliches Wachstum. Später entwickelt sich prächtiger, mit weißem, fettig glänzend. Belag.	Sehr spärl. Wachstum. Mit dünner Schicht umgibt es den Strich.	Spärliches Wachstum.	Ueppig. Wachstum von rötl. Farbe.	Spärliches Wachstum.
in Kein	…nbedeut. Wachstum längs des Stiches in Form eines gelblichen Knopfes. Keine Gasproduktion.	Unbedeut. Wachstum längs des Stiches und an der Oberfläche in Form eines kleinen, hellen Tröpfchens.	Unbedeut. Wachstum längs des Stiches und an der Oberfläche in Form eines gelblich-rötlich. Stecknadelkopfes.	Entwick. ein weißes, konvexes Häutchen längs des Stiches und an seiner Oberfläche.	Oberflächlich. (teils in die Tiefe eindringend.) Wachstum in Form eines gelblich. Knopfes.
	…ewirkt anfangs eine allgem. Trübung, die sich später aufklärt. Weißer, flockenartiger Niederschlag.	Keine Trübung. Spärlich. Niederschlag.	Keine Trübung. Niederschlag.	Starke, gleichmäß. Trübung.	Leichte Trübung. Schleimig. Niederschlag.
	—	Keine Trübung. Ein Häutchen an der Oberfläche.	—	—	—
	Entwick. ein dickes, ungleiches, cremefarbenes Häutchen.	Spärliches Wachstum. Ueberzieht die Kartoffel mit feinem, glänzendem Ueberzug.	Wächst zieml. gut. Kupferrote, scharf konturierte Kolonienränder.	Ueppiges Wachstum mit feinem, weißen Häutchen.	Gutes Wachstum, grünlicher Farbe.
	Keine Milchgerinnung.			Gerinnt am 3. Tag. Durchsichtiges Serum.	Keine Gerinnung.
	…erflüssigt die Gelatine.	Keine Verflüssig. Diffuses Wachstum mit kleinen Kolonien. Trübung der Gelatine.	Keine Verflüssig. Kleine Punktkolonien an d. Oberfläche. Trübt die Gelatine nicht.	Wie 171—174.	Verflüssigt die Gelatine.

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nr.	17	127_2	127_1	171	173	174
Auf dem Agarmed. von Drigalsky.	Mittelstarkes, oberflächl. Wachstum v. weiß-bläulicher Farbe. Das Medium ist etwas gerötet.	Mittelstarkes, oberflächliches Wachstum weiß-bläulicher Farbe. Das Medium ist unverändert.	Ueppiges, oberflächliches Wachstum. Das Medium ist stark entstellt (schmutzig-grau) Gasentwicklung.	Sehr spärliches Wachstum.		
Auf dem Agarmed. v. Oldekop.	Färbt es ins Kanariengelb.	Greift es nicht an.	Färbt es ins Pikringelb.	Färbt es leicht ins Gelbliche.		
Die Medien von Barsiekoff. Milchzucker	Rötet und entstellt es.	Greift es nicht an.				
Die Medien von Barsiekoff. Traubenzucker	Entstellt schwach das Medium	Greift es nicht an.				
Die Medien von Barsiekoff. Mannit	Entstellt schwach das Medium	Leichte Rötung.	Entstellt das Medium.	Greift es nicht an.		
Agglutinationstitrum m. d. Sera d. Flecktyphuskranken.	1:200.	1:800.	1:2000.	1:400.	1:200.	1:200.
Aussaat auf den Petri-Schalen.	Makroskopisch: runde, fettig-glänzende, gelbliche, glatt konturierte Kolonien. Mikroskopisch: runde, körnige Kolonien mit glattem Rande.	Makroskopisch: mittelgroße, gelbliche Kolonien. Die Kleineren sind weißlich. Mikroskopisch: Kleinkörnige Kolonien mit ungleichem helleren Rand.	Makroskopisch: Ausgedehnte, weißliche Streifen überziehen die ganze Agaroberfläche. Mikroskopisch: Kleine, fast durchsichtige Kolonien, ähneln gestampftem Glas. Glatter Rand.	Wachsen sehr spärlich auf gewöhnlichem Agarmedium.		
Kolonienentwicklung auf dem Medium von Drigalsky.	Nach 2 Tagen röten sich die Kolonien unter d. Medium (saurer Geruch von den Kolonien).	Nach 4 Tagen sind die Kolonien lila gefärbt. Das Medium bleibt unverändert.	Vom 1.—4. Tage durchsichtiges Wachstum längs der ganzen Oberfläche d. Gefäßes. Der Agar bleibt unverändert.	Wächst sehr spärlich.		
Kolonienentwicklung auf dem Medium von Endo.	Nach 4 Tagen werden die Kolonien blutrot.	Wie 17.	Nach 4 Tagen werden die Kolonien blutrot mit himbeerfarbigem Antlug.	Wächst sehr spärlich.		
Verhalten zu den weißen Versuchsmäusen.	Tötet die Maus nach 24 Std. (Hyperämie der inneren Organe).	Tötet die Maus am 5. Tage.	Tötet die Maus binnen 24 Std. Die Kultur ließ sich aus dem Blute isolieren.	Tötet die Maus nach 8 Tagen.		
Diagnose.	Streptococcus liquefac. ilei (Jakowsky).	Bac. liquefac. ilei.	Proteus vulg. 19 × (Hansen).	Baz. von Rabinowitsch.		
Nitroso-Indol.	Keine Produktion.	Produziert es.	Keine Produktion.	Keine Produktion von Nitroso-Indol.		
Anaërobes Wachstum.	Wächst wie aërob.	Wächst, entwickelt aber kein Pigment.	Wächst wie aërob.	Wächst besser als aërob.	Wächst besser als aërob.	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

187	189	198	199	202
Unbedeutende Entwicklung an der Oberfl. in Form ein. violettblauen Knopfes.	Sehr spärl. Wachstum.	Oberflächliche Entwicklung in Form eines fettig glänzenden, lilafarbig. Häutchens, darunter das Medium sich rötet.	Weißlich-rötliches Häutch. Rötung des Mediums.	Gutes Wachstum. Entwickelt ein dickes, lilafarbig. Häutchen.
Färbt es fast bis zum Kanariengelb.	Wie 187.	Färbt es ins Gelbl. An der Oberfläche ein Häutchen.	—	—
Greift es nicht an.		Entstellt das Medium.	Leichte Rötung.	Entstellt das Medium.
Entstellt das Medium.			Greift es nicht an.	Entstellt das Medium.
Leichte Rötung.	Entstellt das Medium.		Greift es nicht an.	Leichte Rötung.
1:40.	1:60.	1:2000.	1:400.	1:200.
Makroskopisch: homogene Kolonien mit glattem Rand.	Makroskopisch: sehr kleine, weißliche Kolonien, die streifenartig zusammenfließen.	Makroskopisch: weißliche Kolonien v. stellenweise leicht gelblicher Farbe.	Makroskopisch: weiße, runde, konvexe, glatt konturierte Kolonien.	Makroskopisch: farblose Kolonien, von denen sich an d. Agaroberfläche. Streifen ziehen
Mikroskopisch: sind sie körn., farblos, mit ungleich. Rand. Bei direkt. Licht erscheinen sie violett.	Mikroskopisch: kleine Kolonien in Form von gestampftem Gas, formlos u. durchsichtig.	Mikroskopisch: runde, konvexe, homogene, glatt konturierte Kolonien. Die älteren sind gelblich.	Mikroskopisch: kleinkörnige, mit dunklem Zentrum und hellem Rand.	Mikroskopisch: durchsicht., konvexe, runde, glatt konturierte Kolonien.
Weißliche Kolonien, an Oehlfarbe erinnernd. Das Medium bleibt unverändert.	Sehr schwaches Wachst. Weiße Punktkolon. Das Medium bleibt unverändert.	Zarte, bläuliche Kolonien. Das Medium färbt sich etwas ins Rötliche.	Weiße Kolonien. Der Agar ist gerötet.	Nach 4 Tagen bleibt der Agar unverändert.
Nach 4 Tagen röten sich die Kolonien.	Nach 4 Tagen werden die Kojonien etwas rosig.	Dürftiges Wachstum. Die Kolonien färben sich leicht ins Rötliche.	Nach 4 Tagen röten sich die Kolonien.	Nach 4 Tagen röten sich die größeren Kolonien.
Tötet die Maus am 3. Tag.	Tötet die Maus am 5. Tag.	Tötet die Maus am 3. Tag.	Die Maus krepierte nach $1^1/_2$ Tag., aber aus anderem Grunde.	Tötet die Maus am 2. Tag.
—	Nähert sich dem Bazillus v. Rabinowitsch.	—	Diplococcus albus intestinum (Jakowsky).	—
Keine Produktion von Nitroso-Indol.				
Wächst besser als aërob.		Wächst dürftiger anaërob.	Wächst wie aërob.	Wächst nicht.

Tabelle Nr. 4.
Ergebnisse der Agglutinabilität der Bakterienstämme.

Stamm Nr.	Anzahl der Untersuchungen mit den Typhussera	Anzahl der Untersuchungen mit fremden Sera	Titer der Typhussera	Titer fremder Sera
17	6	4	1:100—1:2000	—
127	7	4	1:800	—
127₁	6	4	1:1000—1:2000	—
171	7	4	1:200	—
173	5	3	1:400	—
174	3	3	1:200	—
187	3	3	1:40	1:20
189	4	3	1:60	—
198	[illegible]	3	1:2000	—
199	4	3	1:400	—
202	4	3	1:200	—

diphtheritische Hoffmann-Bazillen beschrieben. Einer der 3 Stämme, deren Feststellung ich vorläufig offen ließ, und zwar Nr. 202, sieht dem Paratyphus B sehr ähnlich, doch wurde leider die Agglutinationsreaktion mit dem Paratyphus nicht gemacht, so daß eine sichere Diagnoszierung unmöglich war.

Die übrigen diagnostizierten, aus dem Blute Flecktyphuskranker gewonnenen Bakterienstämme lassen sich in 2 Hauptgruppen einteilen: 1) pseudodiphtheriellen-Typus und 2) Darmbewohner. Wie die Auswanderung der Bakterien aus dem Darm ins Blut vor sich geht, wird noch näher erörtert werden.

Was dagegen die Bazillen des Rabinowitsch-Typus anbetrifft, so ist ihr Eindringen in den Blutkreislauf durch die von Korschun gestellte Diagnose entschieden und erklärt sich dadurch, daß beim Flecktyphus die Mandeln oft stark hyperämiert erscheinen und so für Bakterien sehr zugänglich sind. Allerdings betrachtet Rabinowitsch seinen Bazillus als den Flecktyphuserreger und nimmt eine andere Art des Eindringens ins Blut an.

Die noch nicht diagnostizierten Nrn. 187 und 198 stammen höchstwahrscheinlich von "Wildkeimen", die zufällig in den Darm gelangt waren. Leider konnte ich mit der vorhandenen Literatur diese Stämme nicht sicher diagnostizieren.

Wie können nun aber die bakteriellen Darmbewohner in den Blutkreislauf der Kranken und sogar die Fähigkeit erlangen, sich mit den Blutseris der betreffenden Kranken, wie mit dem der Genesenden zu agglutinieren?

Diese bakterielle Uebersiedlung aus dem Darme ins Blut ist bereits ziemlich gut an Kindern und ganz leidlich an Tieren erforscht worden. Sie geht wahrscheinlich ähnlich bei Erwachsenen vor sich.

Wurtz (16) sah bei langsam zum Tode führenden Arsenikvergiftungen bei Hunden Darmbakterien in einigen Fällen noch während des Lebens ins Blut und Exsudate aus Pleura und Peritoneum eindringen. Aehnliches konstatierte auch Bouchard an gefrorenen Kaninchen. Wurtz machte dabei die Beobachtung, daß beim raschen Todeseintritt (starker Giftdosis) das Blut und die Exsudate steril blieben, je länger dagegen das Tier agonierte, desto mehr Bakterien enthielt es. Er hält die Stockungserscheinungen im Darm für die Ursache dieses Eindringens. Dasselbe behauptet auch Bonneken (17), der bei Hunden künstliche Hernien hervorrief und daran seine Beobachtungen anstellte. Nach seiner Ansicht genügt dazu eine venöse Stockung, eine serö-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Imbibition der Darmwand. Maklezow (18) schließt sich dieser Ansicht an, und Lewin (19) und Rosner behaupten sogar, daß dazu eine Koprostase ohne jegliche anatomische Veränderungen genügt. Nach Klimenko (20) ist die Darmwand eines gesunden Tieres für Bakterien undurchdringbar, wird es aber bei irgendeiner Erkrankung.

Bei hungernden Tieren ist die Resistenz gegen die per os eingeführten Bakterien eine geringere. In diesen Fällen beobachtete Ficker (21) eine Vergrößerung der Mesenterialdrüsen. Ferner ist Hunger mit Uebermüdung eine äußerst günstige Kombination für das Eindringen der Darmbakterien ins Blut. Calmette, Vansternberghe und Gryses (22) gelang es durch Einführung einer virulenten Pneumokokkenbouillonkultur mittels einer Sonde in den Magen der Meerschweinchen und Kaninchen eine experimentelle Pneumonie hervorzurufen. Diese 3 Autoren meinten, daß die eingeführten Pneumokokken die Schleimhaut des Darmes durchdringen, in die Blut- und Lymphgefäße gelangen und mittels der Blutzirkulation passiv in die Lungen gebracht werden.

Aus dem Angeführten geht deutlich hervor, daß venöse Stockungen, seröse Imbibitionen oder andere Erkrankungen die Bakterienauswanderung durch die Darmwand begünstigen. Der Flecktyphus ist an und für sich eine so schwere Erkrankung, daß sich bei ihm die Darmflora im ganzen Körper verbreitet und in Blutgefäßen zu finden ist, deren Wände dabei stark entstellt erscheinen, wie bereits Fraenkel, Dawidowsky u. a. bewiesen haben. Die verschiedenen Darmteile werden (nach Moro, 23) bei Kindern von verschiedenen Bakterienarten bewohnt. Im Dünndarm z. B. prävaliert das Bact. coli commune und Bac. lact. aërogenes, im Coecum und Dickdarm dagegen der Bac. bifidus.

Nach Tissier (23) finden sich in den oberen Darmabteilungen sauerstoffempfindliche Baterienarten, die schwache Fermente produzieren; in den unteren aber obligatorische, stark fermentativ wirkende Anaërobier. Nencky (23) bestätigte diese Angaben durch Experimente an Hunden und Menschen, indem er den Darmgehalt untersuchte, der aus einer durch Hernie bedingten Fistel hervortrat.

Die Darmflora verbreitet sich demnach in einer gewissen Gesetzmäßigkeit. Aber außer den konstanten Bakterien finden sich im Darme noch sogenannte „wilde“ Formen (nach Sterny u. Kohlbrugge (24), die mit der Nahrung und sogar mit den verschiedenen geographischen Breitegraden in Zusammenhang zu stehen scheinen.

Nach Tissier (25) wird die Darmflora der Säuglinge von der Nahrung beeinflußt und verändert, Lembke (26) konstatiert dasselbe bei Hunden. Gewöhnlich hat die bakterielle Darmflora ihren Ursprung in Speise und Trank, denen sich einige Bakterien der Mundhöhle und der Luft zugesellen, wobei die Tonsillen keine geringe Rolle spielen. Scheibner (27) behauptet sogar, daß bei Darmtuberkuloseinfektionen die Grundursache in den Tonsillen liegt. Dieser Ansicht sind auch v. Friedmann, Beckmann, Grober (27) u. a.

Nach Ziklinsky und Bruini (28) ist die Darmflora der Bewohner der verschiedenen Erdgegenden nicht identisch, und zwar gibt es hier so viele Modifikationen als Gegenden.

Folglich ist ein Teil der Darmflora beständig und entwickelt sich stets planmäßig in dem Darmtraktus. Ein anderer Teil variiert aber und ist dabei von Speise, Trank und territorialen Bedingungen abhängig. Die Blutflora der Flecktyphuskranken ist gewissermaßen eine Abspiegelung eines Teiles ihrer Darmflora. Möglicherweise üben daher die Tonsillen einen gewissen Einfluß aus. Auch die Länge der Krankheitsperiode muß in Betracht gezogen werden. Je länger das Leiden dauert, desto mehr Möglichkeiten bieten sich den Bakterien, in den Blutkreislauf zu gelangen. Unsere systematischen Blutuntersuchungen zeigten, daß die Darmflora, resp. ihr Abbild, die Blutflora bei Flecktyphuskranken, von der Nahrung, Lebensweise und Krankheitsperiode abhängig ist. Näher auf die Krankheitsperiode einzugehen, erübrigt sich, da diesbezügliche Untersuchungen von Rosenberg und Barykin (29, 30) vorliegen. Dagegen läßt sich der Einfluß von Nahrung und Lebensweise an unseren Kranken parallel mit den Blutuntersuchungen beobachten.

Es waren nämlich meist Petersburger Frauen und Soldaten der roten Armee, an denen wir unsere Beobachtungen machten. Der Einfluß der Nahrung zeigt sich beim Vergleich von einheimischen Petersburgern und den aus der Provinz kommenden Soldaten. Aus dem Blute der Peters-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

burger (die die Sovietsky-Portion genossen) sind meist Kokken und Kokkobazillen isoliert, aus dem der Provinzialen dagegen meist Stäbchen. Besonders charakteristisch erwies sich die Untersuchung des Blutes von Baschkiren, die aus Baschkirien direkt angekommen waren, unterwegs erkrankten und von der Eisenbahn ins Lazarett gebracht worden waren. Das Blut wurde ihnen gleichzeitig mit den anderen Kranken entnommen. Bei den Ankömmlingen wurden Stäbchen, bei den übrigen aber andere Bakterienformen isoliert, was ausschließlich von den Ernährungsbedingungen der Baschkiren abhängen dürfte, die natürlich bessere Kost genossen als die halbhungernden Petersburger. Dafür sprachen auch meine oben angeführten Aussaaten nach Plotz. Von 20 nach den Originalanweisungen gemachten Aussaaten ließ sich nur in einem Falle ein Stäbchen isolieren, das dem Plotzschen ähnlich sah, während im 2. Falle saprophyte Kokken aus dem Darme in Betracht kamen.

Die geringe Anzahl der Stäbchenbefunde kann durch die spärliche Kost der Petersburger erklärt werden, welche das Eindringen der Kokkenformen mehr als das der Stäbchen in den Blutkreislauf verursachten, was auch durch andere Forscher bewiesen ist. Tab. 1 zeigt, daß aus 90 Befunden (von 642 Aussaaten) von 194 Kranken 68 Kokkenformen und 22 Stäbchen isoliert worden sind, d. h. daß der letzteren 3mal weniger war. Die Zahl der abgemagerton Kranken war auch ungefähr 3mal größer als die der Wohlgenährten.

Diese große Verschiedenheit der Befunde bei klinisch fast gleichen Kranken erklärt sich nur durch den Halbhunger, den die Petersburger im Moment der Blutentnahme und $^1/_2$—1 Jahr vorher gelitten hatten. Dazu kamen dann noch allerhand unpassende Genußmittel, verschiedene Surrogate (Ersatz), die infolge ihrer Ungewohntheit den menschlichen Darm stark reizten und unter der Bedingung der Allgemeinerkrankung das Eindringen der Darmbewohner ins Blut erleichterten.

In den unteren Darmabteilungen befinden sich nach Tissier und Moro meist anaërobe, in den oberen fakultativ-anaërobe Bakterienarten, was zweifellos auch eine bedeutende Rolle beim Eindringen der verschiedenen Arten der Darmflora ins Blut der Flecktyphuskranken spielt. Erschlafft z. B. unter Einfluß der groben Nahrungsmittel ein gewisser Darmteil eher, so ist dies ein günstiges Moment für die Auswanderung einer Bakterienflora ins Blut.

Auf die 2. Frage, „wie es möglich ist, daß obligate Saprophyten sich mit den Typhuskrankensera agglutinieren lassen“, kann mit den Worten von W. Jakowleff (31) geantwortet werden: „die Einwirkung des unbekannten Flecktyphuserregers auf Zellen und Säfte des menschlichen Körpers erregt im letzteren eine Produktion solcher Antikörper, die eine Reaktion bei all den Bakterien hervorzurufen fähig sind, die eine entsprechenden Rezeptor besitzen. Der rezeptorische Apparat kann aber, infolge der veränderten Körpersäfte in gewissen Schranken sich ändern und die Entstehung neuer Bakterienarten beeinflussen, die mit anderen Eigenschaften ausgerüstet sind, als die ihnen einverleibt worden waren. Es findet dabei eine sogenannte „Mutation“ statt. — Die Entstehung der neuen Rezeptoren kann nach „Salus“ sogar außerhalb des Körpers erfolgen. Impft man Typhusstäbchen in eine Bouillon und das mit den Typhusseren nicht agglutinable Bact. coli comm. und läßt die Kultur einige Tage lang wachsen und überimpft dann auf Agar, so erzielt man damit, daß die Coli-Kolonien vom Agar sich mit den Typhusseren agglutinieren lassen. Und umgekehrt läßt sich die Agglutinabilität der

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterien verringern, ja sogar dadurch vernichten, daß man mit den Seris ihre Rezeptoren zerstört [Krestownikoff (32)]. Schwieriger läßt sich die Frage beantworten, wie lange die Saprophyten die Agglutinabilität mit den Typhusseren behalten. Proteus 19x bewahrt diese Fähigkeit jetzt das 5. Jahr, andere von mir isolierte Bakterienstämme das 2. Vielleicht übt der Nährboden einen besonderen Einfluß auf die Konservierung der neuen Rezeptoren aus, denn aus ihm und den benachbarten Rassen schöpfen die betreffenden Stämme neue Eigenschaften und verlieren sie wieder unter anderen Verhältnissen.

Schlußfolgen.

1) Bei der Aussaat des Blutes klinisch ausgewählter Flecktyphuskranker, die sich in der Krankheitsperiode vom 7.—9. Tage befanden, lassen sich in 45 Proz. aller Fälle mannigfaltige Bakterienstämme isolieren. — 2) Die Mehrzahl der Befunde bestand aus Stämmen, die vormals als Darmbewohner beschrieben worden waren. — 3) 75 Proz. der isolierten Bakterien waren Kokken, 25 Proz. Stäbchen. — 4) Die Mehrzahl der Kranken bestand aus hungernden Petersburgern und kaum einem Viertel aus zugereisten Provinzialen, die unter günstigeren Lebensbedingungen gewesen waren. — 5) Der reichliche Befund von Darmkokken läßt sich wahrscheinlich daraus erklären, daß der allgemeine Halbhunger und die Ueberlastung des Darmes mit allerhand Ersatznährprodukten zu dessen Reizung führte und das Eindringen der bakteriellen Darmflora ins Blut begünstigte. — 6) Ausgeschlossen ist es nicht, daß Tonsillen dabei eine Rolle spielen.

Literatur.

1) Hallier, Moreau u. Cochez, zitiert nach Rabinowitsch, Vom Erreger des Typh. exanth. (Samml. v. Melnik. Rasved.) — 2) Beresneff, A., Von den Bakterien beim Typh. exanth. (Wratschebnaja Gazeta. 1918. Nr. 11—12.) — 3) Sawatjeff u. Lochow, Russky Wratsch. 1916. Nr. 48. — 4) Nedrigailoff, W., Protokoll d. Versammlung d. Aerzte d. Westfront vom 14.—28. Mai 1916. — 5) Levaschoff, S., Arch. f. biol. Wissensch. Bd. 4. 1896. Heft 14; Wratsch. 1892. Nr. 11 bis 17. 1893. Nr. 35—38; 1894. Nr. 2 u. 3.) 6) Goldenstein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. H. 2., zit. n. Beresneff.) — 7) Czernel, Wien. Klin. 1916. Nr. 35. — 8) Plotz u. Olitzky, zit. nach B. Ebert, Nachricht d. Kommissar d. Gesundheitsbesch. S. K. S. Nr. 3 u. 4. 1919. — 9) Friedberger, zit. nach Jakowleff, W., Handbuch für Flecktyphus. Petersburg 1920. — 10) Rosenberg, N., Arb. u. Konferenz d. Versamml. über d. Typh. exanth. Petersburg 1920. — 11) Jakowsky, Arch. f. biol. Wissensch. Bd. 1. 1892. S. 574. — 12) Serkowsky, Handb. d. Bakteriendiagnose. Charkow 1898. — 13) Rabinowitsch, M., Vom Erreger d. Typh. exanth. (Samml. Meln. Rasv.) — 14) Korschun, Wratschebnoje Delo. 1919. Nr. 14 u. 15. — 15) Tzitzkin, A., Der Darm vom bakter. Standpunkt betrachtet. Moskau 1907. — 16) Wurtz, zit. nach Tzitzkin, S. 54. — 17) Bonneken, wie oben. S. 66. — 18) Maklezoff, N., Zur Frage der Perforation der Darmwand durch Bakterien bei der Undurchgängigkeit d. Darmes. (Wratsch. 1897. Nr. 10.) — 19) Posner, S., u. Lewin, A., Ueber kryptogenetische Entzündungen namentlich der Harnorgane. (Berlin. klin. Wochenschr. 1894. S. 742.) — 20) Klimenko, W., zit. nach Tzitzkin. — 21) Ficker, zit. nach Tzitzkin. — 22) Calmette, Vansteenberghe und Grises, wie oben. S. 97. — 23) Moreau, Tissier u. Nencky, zit. n. Tzitzkin, Der bakteriologische Befund der Speiseröhre. Moskau 1907. S. 27 u. 28. — 24) Stern u. Kohlbrugge, zit. nach Tzitzkin, S. 32. — 25) Jungano, M. u. Distaso, A., Die Anaërobien. St. Petersburg 1912. — 26) Lembke, Weiterer Beitrag z. Bakterienflora d. Darmes. (Arch. f. Hyg. Bd. 29 1897. S. 304. — 27) Scheibner, Friedmann u. a., zit. nach Tzitzkin. S. 120 u. 121. — 28) Ziklinsky u. Bruini, wie oben.

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

— 29) Rosenberg, N., Samml. d. Konferenz über d. Typh. exanth. Petersburg 1920. — 30) Barykin, Sammlung. (Typh. exanth. und sein Erreger.) Rostow 1920. — 31) Jakowleff, W., Med. Wissensch. Petersburg 1919. Nr. 1. — 32) Krestownikoff, A., Arbeiten d. Konferenz über d. Typh. exanth. Petersburg 1920. — 33) Kolle-Wassermann, Pathogene Mikroorganismen. — 34) Macfadyen, A., Nencki u. Sieber, N., Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 1891. S. 311. — 35) Mazuschita, Bakteriol. Diagnostik. — 36) Macé, E., Traité pratique de Bactér. Paris 1901. — 37) Günther, Handb. d. Bakt. Saratow 1910. — 38) Zabolotny, D., Beobachtungen über d. Typh. exanth. Vorl. Mitt. in d. biol. Versammlung zu Petersburg am 14. April 1915. (Russky Wratsch. 1916. Nr. 18.) — 39) Sammlung der Arbeiten über den Flecktyphus. Odessa 1920/21. H. 1 u. 2. — 40) Sterling-Okoniewsky, Dur Wysypkowy. 1919. — 41) de Rocha-Lima, H., Die Aetiologie des Fleckfiebers. (Ergebn. d. allgem. Path. u. path. Anatomie. Bd. 19. 1919.) [Zusammenfassende Uebersicht von 649 Arbeiten.]

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorkommen der verschiedenen Pneumokokkentypen.

[Aus dem Hygienischen Institut Düsseldorf.]

Von Prof. Dr. **Bürgers** und Dr. **H. Herz.**

Die von Neufeld und Haendel begonnene, von amerikanischen Autoren erweiterte Typeneinteilung steht zurzeit im Vordergrunde der Pneumokokkenforschung. Auf die Literatur, besonders die Arbeiten von Schiemann, Seitz und Hintze, Dochez und Avery, Lyall, M. Clough soll hier nicht eingegangen werden. Immerhin glauben diese Autoren mehr oder weniger, die bei Pneumoniefällen und ihrer Umgebung, andererseits bei Gesunden gefundenen Pneumokokken verschiedenen Typen zuweisen zu müssen, wenn man auch gerade bei Pneumonie alle Typen in verschiedener prozentualer Beteiligung finden kann. Die Typen 1—4 werden als feststehende Varietäten betrachtet. Man glaubt also, dem Problem: Ist die Pneumonie eine exogene oder endogene Infektion? näher gekommen zu sein. Daß hier besondere Verhältnisse vorliegen, hat Kruse schon seit vielen Jahren betont. Durch die Arbeit von Yoshioka wurde nun bekannt, daß doch zwischen den einzelnen Typen eine gewisse Rezeptorengemeinschaft bestehen müsse. Da die mit der Entstehung der Pneumonie zusammenhängenden Fragen nur durch große, an verschiedenen Orten durchgeführte Untersuchungen geklärt werden können, da weiter der begründete Verdacht besteht, daß die Verhältnisse geographisch verschieden liegen, hat Frl. Dr. H. Herz am hiesigen Institut 100 Pneumokokkenstämme der verschiedensten Herkunft näher untersucht; über die Ergebnisse soll hier summarisch berichtet werden: In der ersten Zeit wurde mit Seren gearbeitet, welche wir der Liebenswürdigkeit von Geheimrat Neufeld verdanken. Da derselbe Autor uns auch mit einzelnen Typen infizierte Mäuseorgane zur Verfügung stellte, waren wir in der Lage, uns selbst Kaninchensera herzustellen. Die Berliner Sera agglutinierten bei uns (mikroskopische Agglutination) Ser. I Typ. I 1:80, Ser. II, Typ. II 1:80, Ser. III,

Digitized by Google | Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Typ. III 1 : 160. Wir gaben den Kaninchen in Abstand von je 8 Tagen oder mehr steigende Dosen von $^1/_2$—4 Oesen bei 56° abgetöteter Pneumokokkenkultur. Das Resultat zeigt folgende Tabelle:

Zeit		Titerhöhe 1: Typ. I	Typ. II	Typ. III
Nach 3 Impfungen	Serum I	160	160	40
	„ II	40	320	20
	„ III	40	80	80
Nach der 4. Impfung (4 Oesen)	„ I	40	320	320
	„ II	160	320	20
	„ III	0	40	160
Nach der 5. Impfung (4 Oesen)	„ I	320	80	0
	„ II	80	320	20
	„ III	0	40	320
Prüfg. ders. Serumprobe nach 2 Woch. Lagerung im Eisschrank	„ I	160	0	20
	„ II	20	320	0
	„ III	0	0	220
6. Impfung 10 Wochen nach der 5. Prüfung 6 Tage später	„ I	320	40	0
	„ II	0	320	40
	„ III	0	80	160

Das Resultat ist also eine Bestätigung der Befunde von Yoshioka: Uebergreifen der Sera, teilweiser Verlust dieser Eigenschaft nach Lagerung.

Der Berliner Stamm Typ. I zeigte zeitweise mit unserem Serum keine Agglutination. Nach Tierpassage (Maus) gewann er seine volle Agglutinabilität wieder. Es wurden nur solche Stämme untersucht, welche typische Form und Wachstum zeigten, sowie in 10-proz. taurocholsaurem Natrium (Neufeld) aufgelöst wurden. Auf atypisches Verhalten anderer Stämme soll hier nicht eingegangen werden. Die untersuchten Stämme hatten folgende Herkunft: 30 Stämme von Pneumonie, darunter 10 Masernpneumonien, 8 Grippepneumonien, 19 Stämme aus Fällen von Bronchitis (Sputa), 5 Stämme von Pleuritis, 4 von Meningitis, 2 Stämme von Sepsis, 1 Stamm von Gelenkpunktat, 6 Stämme von Keuchhusten, 2 von Meerschweinchenpneumonie, 31 Stämme aus Rachenabstrichen von gesunden Menschen.

Die Typenverteilung insgesamt stellt sich folgendermaßen dar:

Typ. I in 25 Proz. aller Fälle, Typ. II in 47 Proz. aller Fälle, Typ. III in 21 Proz. aller Fälle, Typ. IV in 7 Proz. aller Fälle,

wobei als Typ. IV diejenigen Stämme aufgeführt sind, welche mit Serum I—III nicht agglutinierten. (Ob das ganz korrekt ist, soll hier nicht näher untersucht werden.) Im einzelnen fand sich folgende Verteilung.

Bei Pneumonien: Typ. I in 23 Proz.,	bei Gesunden Typ.	I in 21 Proz.
„ „ „ II „ 47 „	„ „ „	II „ 55 „
„ „ „ III „ 27 „	„ „ „	III „ 24 „
„ „ „ IV „ 3 „	„ „ „	IV „ 0 „

Bei Bronchitis: Typ. I in 32 Proz.
„ „ „ II „ 53 „
„ „ „ III „ 5 „
„ „ „ IV „ 10 „

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei 5 Stämmen aus pleuritischem Exsudat war
Typ. I 1mal
„ II 2 „
„ III 1 „
„ IV 1 „ vertreten.

Die Stämme aus 4 Fällen von Meningitis waren Typ. II 2mal, Typ. III 2mal
„ „ „ 2 „ „ Sepsis waren Typ. I 2mal
„ „ „ 2 „ „ Tierpneumonie waren Typ. II 1mal, Typ. IV 1mal
„ „ „ 1 Fall „ Gelenkpunktat waren Typ. II 1mal.

Die Umgebungsuntersuchungen hatten folgendes Resultat:

1. Fall Pneumonie Typ. II, bei 2 Personen aus der Umgebung Typ. II 1mal. Typ. III 1mal.
2. Fall Pneumonie Typ. II, bei 2 Personen aus der Umgebung Typ. II 1mal, Typ. III 1mal.
3. Fall Pleuritis Typ. III bei 4 Personen aus der Umgebung Typ. I 1mal, Typ. II 3mal.
4. Fall Meningitis Typ. II bei 6 Personen aus der Umgebung Typ. I 1mal, Typ. II 4mal, Typ. III 1mal.
5. Bei einer gesunden Familie (5 Personen) fanden sich Typ. I 3mal, Typ. II 2mal.
6. Bei einer gesunden Familie (3 Personen) fanden sich Typ. II 1mal, Typ. III 2mal.
7. Bei einer gesunden Familie (4 Personen) fanden sich Typ. II 1mal, Typ. III 3mal.

Mitagglutination durch heterologe Sera zeigten 27 von 100 Stämmen. Doch erreichte die Agglutination in heterologen Seren selten hohe Werte. Mehrfache Prüfung derselben Stämme vor und nach längerer Züchtung ergab nur geringe Schwankungen in der Titerhöhe. Durch Komplementbindung, welche in verschiedenster Modifikation ausgeführt wurde, ließ sich wohl Typ. III von den beiden anderen, nicht sicher aber Typ. I von II trennen.

Bemerkenswert ist, daß manche Stämme nach der ersten Reinzüchtung überhaupt nicht agglutiniert werden, nach längerer Fortzüchtung aber deutlich spezifische Agglutination aufweisen. Auf diese Fehlerquelle muß also geachtet werden. Virulenzprüfungen sämtlicher Stämme am Tier waren uns aus äußeren Gründen nicht möglich.

Wenn man solch kleinen Versuchsreihen, wie den oben mitgeteilten (100 Stämme) überhaupt einen Wert beimessen darf, so kann mit aller Vorsicht nur gesagt werden: Eine Regelmäßigkeit des Vorkommens bestimmter Typen bei Kranken und Gesunden, namentlich aber in der Umgebung von Kranken konnte bei uns nicht beobachtet werden. Es bedarf also — wenn überhaupt das Problem der Infektion mit Pneumokokken auf diesem Wege zu lösen ist — noch umfangreicher, an vielen Orten Deutschlands auszuführender Untersuchungen, und es ist absolut verfrüht, von einer Klärung der Pneumoniefrage zu sprechen.

Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber Streptokokkenfunde und Streptokokkenzüchtung aus dem Blute von Masernkranken.

Vorläufige Mitteilung.

Von Oberstabsarzt Dr. **Donges,** Rostock i. Mecklenburg.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Der Nährboden, mit dem die Untersuchungen angestellt wurden, ist schon seit über 10 Jahre bei der Erforschung der Maul- und Klauenseuche im Mecklenburgischen Landes-Tierseuchenamt zu Rostock mit dem Erfolge angewendet worden, daß mit ihm der Erreger der Maul- und Klauenseuche allem Anschein nach gezüchtet wird, ohne daß es allerdings bisher gelungen ist, ihn im Filter festzuhalten oder ihn im mikroskopischen Präparat (Dunkelfeld) erkennen zu können. Der Erreger der Maul- und Klauenseuche vermehrt sich in diesem Nährboden, nachdem er mit dem Inhalt der Aphthenbläschen beimpft ist, was an der auftretenden Trübung, unter sicherem Ausschluß jeglicher Sekundärinfektion zu erkennen ist; ferner besitzt der Nährboden, mit dem Inhalt der Aphthenbläschen beimpft, bei der Komplementbindungsreaktion antigene Eigenschaften.

Dieser Nährboden ist in seiner Zusammensetzung in der Berliner Tierärztl. Wochenschr. 1913. Nr. 6. S. 97: Kurze Mitteilung über die im Landesgesundheitsamt zu Rostock ausgeführten Untersuchungen über die Maul- und Klauenseuche von Prof. Dr. Ludwig Peiffer veröffentlicht.

Dieser Nährboden, den ich nach dem Namen seines Herstellers, des Herrn Oberpräparators Grugel am Landes-Tierseuchenamt, „die Grugelsche Mucinbouillon“ nennen will, setzt sich im wesentlichen zusammen aus: Bouillon, Muzin und 10 Proz. Serumzusatz (Rinder- oder Pferdeserum); statt Fleisch werden zur Herstellung der Bouillon Zunge, Lippen, Zahnfleisch und Speicheldrüsen von Rindern genommen; der Nährboden muß stark alkalische Reaktion haben. Bei der Zusammensetzung dieses Nährbodens ging Herr Grugel von dem Gedankengange aus, daß die Teile der Mundhöhle und der Klauen, an denen die Aphthenbläschen bei der Maul- und Klauenseuche auftreten, der Lieblingssitz des Erregers der Maul- und Klauenseuche sein müsse. Er verarbeitete daher die lymphatischen, mucinreichen Stellen der Mundhöhle in den Nährboden hinein. Der Nährboden hat im Laufe der Jahre verschiedene unwesentliche Abänderungen erfahren, im wesentlichen hat er sich in seiner Zusammensetzung nicht verändert.

Durch die Liebenswürdigkeit des Direktors des Landes-Tierseuchenamts, Herrn Prof. Reinhardt, wurde mir auf Anregung des Herrn Grugel vor etwa 1/2 Jahre gelegentlich eines Besuches im Landes-Tierseuchenamt dieser Nährboden, „die Grugelsche Mucinbouillon“, zur

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verfügung gestellt für meine Untersuchungen und für Versuche über in der Humanmedizin bisher unbekannte Erreger von Infektionskrankheiten wie Scharlach, Masern, Gelenkrheumatismus usw.; Herr Prof. Reinhardt beauftragte Herrn Oberpräparator Grugel, mir den Nährboden in ausreichender Menge herzustellen und abzugeben; dieser Nährboden hatte sich bei veterinärmedizinischen Untersuchungen als ausgezeichnet für sehr empfindliche Krankheitserreger bewährt.

Beiden Herrn fühle ich mich hierfür zu ganz besonderem Danke verpflichtet und ich möchte ihnen an dieser Stelle meinen verbindlichsten und aufrichtigsten Dank aussprechen.

Bei der im März d. J. herrschenden Masernepidemie habe ich „die Grugelsche Mucinbouillon" zur Anwendung gebracht.

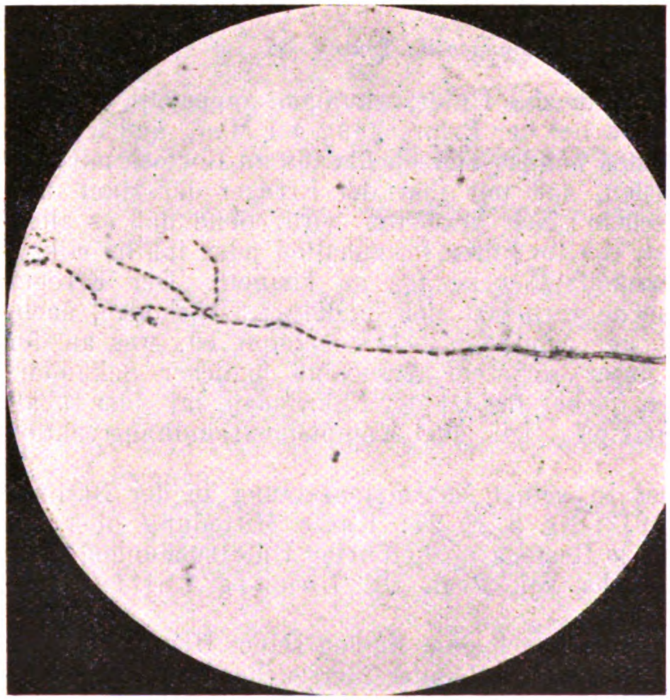


Fig. 1.

Ich ging dabei von folgenden Ueberlegungen aus: Bei einer exanthematischen Erkrankung wie die Masern muß — wenn es sich überhaupt um einen Mikroorganismus als Erreger handelt, den wir züchten und mikroskopisch sehen können, oder, allgemein gesagt, den man mit unserem bakteriologischen Rüstzeuge fassen kann — der Erreger zu einer gewissen Zeit allgemein im Blute sich finden, da bei den Masern das Exanthem überall am Körper auftritt; demgemäß muß man an jeder Stelle des Blutgefäßsystems, einerlei ob ich an der Fingerbeere oder am Ohrläppchen Blut entnehme, selbstverständlich zu einer gewissen Zeit im Verlaufe der Erkrankung, den Erreger antreffen. Ohne darauf einzugehen (das soll dahingestellt bleiben), ob das Exanthem der Masern vom Erreger selbst (nach Analogie mit anderen Infektionskrankheiten, z. B. Typhus) oder von seinen Toxinen erzeugt wird, mußte nach dem allgemein verbreiteten Exanthem der Erreger in ziemlicher Masse im Blute kreisend angenommen werden, so daß auch kleine Blutungen genügen müßten, ihn zu fassen.

Glücklicherweise gelang es beim ersten zur Untersuchung gewählten Masernfall mit 2 Blutstropfen aus dem Ohrläppchen (nach gründlicher Desinfektion der Entnahmestelle), durch Beimpfen der Grugelschen Mucinbouillon und Anreicherung in dieser nach 48-stünd. Aufenthalt im Brutschranke bei 37°, im mikroskopischen Präparat, das aus der beimpften und bebrüteten Grugelschen Mucinbouillon hergestellt wurde,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Befund von außergewöhnlich langen Streptokokkenketten in Reinkultur zu erhalten. Am nächsten Tage wurde bei 2 weiteren Masernfällen, die ich in meine militärärztliche Behandlung bekam, ebenfalls Blut entnommen (2 Blutstropfen aus der Fingerbeere), und nach 24- bzw. 48-stünd. Bebrütung der beimpften Grugelschen Mucinbouillon wurden wiederum, neben Sekundärverunreinigungen, die langen Streptokokkenketten gefunden.

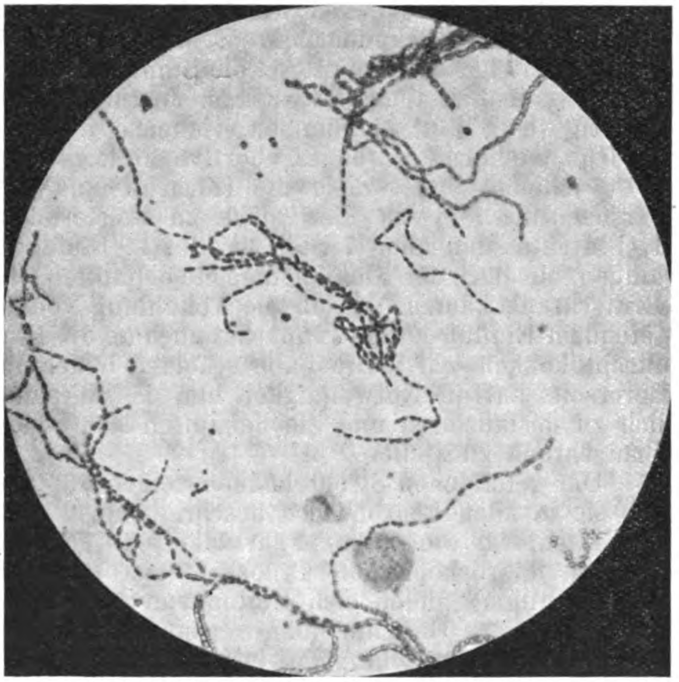


Fig. 2.

Durch diesen gleichartigen Befund ermutigt wurden die Untersuchungen fortgesetzt und ich verfüge bis jetzt über 21 Masernfälle, über die ich nachstehend in aller Kürze eine vorläufige Mitteilung machen will.

Die Untersuchungen erstrecken sich auf 21 Masernfälle (21 Pat.); davon wurden die Streptokokken gezüchtet aus dem Blute in 15 Fällen, aus den Hautschüppchen in 4 Fällen, aus dem Mandelabstrich in 1 Falle.

In 3 Fällen gelang die Züchtung nicht; es waren 3 Geschwister, bei denen sowohl die 1. Blutabnahme bei 2 Kindern, wie die 2. Blutabnahme bei allen 3 Kindern nicht zur Züchtung der Streptokokken führte.

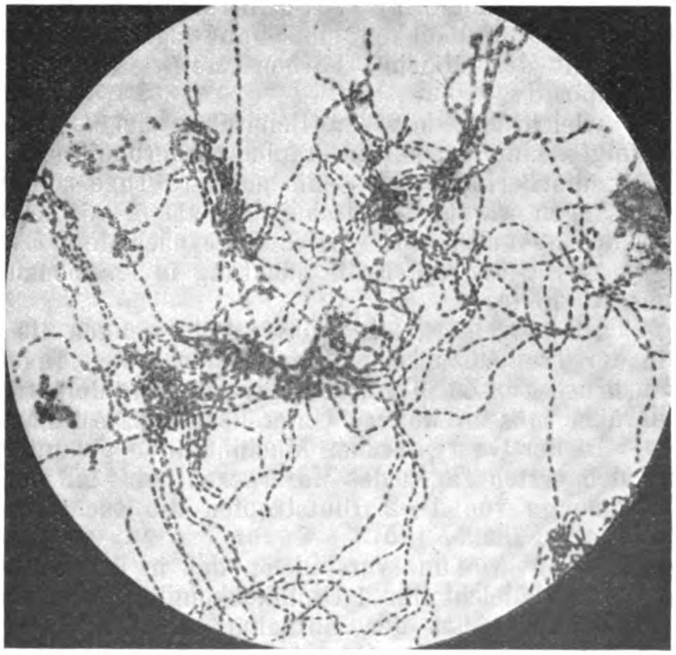


Fig. 3

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ob die Entnahmestelle des Blutes nicht genügend desinfiziert war — die Grugelsche Mucinbouillon war nach 24 Std. bei 37° stark getrübt infolge Wachstums allerhand Haut- und Luftmikroorganismen —, so daß die Streptokokken durch die übrigen mitwachsenden und sie überwuchernden Sekundärmikroorganismen nicht zur Weiterentwicklung Gelegenheit hatten oder durch die Stoffwechselprodukte dieser Sekundärmikroorganismen abgetötet wurden, mag dahingestellt bleiben. Vielleicht war zu wenig Blut entnommen, vielleicht im unrichtigen Moment, d. h. zu früh, vielleicht waren es abortive Fälle.

Vielleicht spielt auch die Tatsache eine entscheidende Rolle, daß versehentlich — aus hier nicht zu erörternden Gründen — bei der 1. Blutentnahme über 4 Std., bei der 2. Blutentnahme fast 20 Std. vergingen, ehe nach der Blutabnahme die beimpften Nährbodenkölbchen in den Brutschrank kamen, so daß die Abkühlung von hemmendem oder sogar tötendem Einfluß auf die zunächst noch an die Bluttemperatur gewöhnten Streptokokken war. Die Fälle scheiden leider aus, sie weisen aber andererseits auf die Notwendigkeit hin, das Entnahmefeld möglichst gründlich zu desinfizieren und die beimpften Nährböden möglichst bald in den Brutschrank zu stellen.

Die gefundenen Streptokokken zeigen die typische Diplokokkenform, wie sie in allen Lehrbüchern beschrieben ist. Diese Diplokokken liegen in Kettenform wie lange „Fahrradketten“ angeordnet.

Im mikroskopischen Präparat (aus der beimpften Grugelschen Mucinbouillon) finden sich Ketten von über 200 Diplokokken, die man durch mehrere Gesichtsfelder verfolgen kann; oft liegen sie in Zöpfen nebeneinander, verschlungen, in Schleifen verknäuelt; niemals findet sich Knickung innerhalb des Diplokokkus, immer zwischen 2 Diplokokken. Die mikroskopischen Bilder gleichen den in den Speziallehrbüchern und Veröffentlichungen beschriebenen Formen des Streptococcus longissimus und Streptococcus conglomeratus.

Die Streptokokken sind unbeweglich, bilden keine Sporen, färben sich mit den üblichen Farben (Methylenblau, Fuchsin usw.); sie sind grampositiv.

Gleichzeitig mit der Beimpfung der Grugelschen Mucinbouillon erfolgte eine solche in Traubenzuckerbouillon. Diese Beimpfung war aber erst erfolgreich, wenn mehrere Tage seit dem Exanthemausbruch vergangen waren, durchschnittlich am 5.—6. Tage nach dem Exanthemausbruch; am 1. oder am 2. Tage nach dem Exanthemausbruch gelang mit 1—2 Blutstropfen die Züchtung in Traubenzuckerbouillon in keinem meiner Fälle.

Ob es gelingt, mit größeren Blutmengen als 1—2 Blutstropfen auch in der Traubenzuckerbouillon in den ersten Tagen nach dem Exanthemausbruch zur Züchtung und Anreicherung der Streptokokken zu kommen, darüber müssen weitere Untersuchungen Aufklärung geben.

In der Grugelschen Mucinbouillon gelang bei der 1. Blutentnahme in den ersten Tagen des Masernexanthems mit der verschwindend kleinen Blutmenge von 1—2 Blutstropfen die Züchtung der Streptokokken in allen 15 Fällen.

Wenn wir uns vorstellen, daß in der Blutmenge von 1—2 Blutstropfen vielleicht nur 1 Diplokokkenglied oder sogar nur 1 Kokkus (vom Diplokokkus) bei der Entnahme in die Grugelsche Mucinbouillon kommt, so stellt die Grugelsche Mucinbouillon den elektivsten Nährboden für Streptokokkenzüchtung dar, der bisher bekannt ist.

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Die Züchtung der Streptokokken gelingt nach der Anreicherung in der Grugelschen Mucinbouillon (I. Generation) in der II. Generation auf Loeffler-Serum, Glyzerinagar, Drigalski-Agar ohne Kristallviolettzusatz, Traubenzuckerbouillon usw.

Die Reinkulturen sind allerkleinste, winzige, transparente, bläulichgraue Tröpfchen oder Bruchteile eines Tröpfchens, ohne jede Körnung oder Trübung; sie sind oft nur schwer zu erkennen; am besten findet man sie z. B. auf Glyzerinagar beim schräg auffallenden Lichte am Rande des Pilzrasens.

Bereits in der II. Generation in Traubenzuckerbouillon überimpft, sind die Ketten kürzer, auf festem Nährboden infolge der mechanischen Wachstumsbehinderung noch kürzer, wie dies erfahrungsgemäß bei den Streptokokken allgemein der Fall ist. Das Wachstum auf Loeffler-Serum ist ebenfalls sehr zart.

Die Prüfung in Lackmusmolke und Milch auf Säurebildung zeigte ganz geringe Rötung und keine Gerinnung, auf Fränkelschem Nährboden (— Drigalski + Nutrose —) ganz geringe Rötung, auf Optochinnährboden deutliches Wachstum.

Die Prüfung auf Schottmüllerschem Blutagar ergab in allen Fällen Hämolyse in verschiedenen Graden, sowohl bei den Reinkulturen aus dem Blute wie aus den Schüppchen; nicht dagegen war Hämolyse zu beobachten bei der Reinkultur, die aus den aus dem Mandelabstrich eines Masernpatienten gewonnenen Streptokokken hergestellt war (nur 1 Fall).

Meist war starke Hämolyse zu beobachten; auch in der V. und VI. Generation überimpfte Reinkulturen zeigten noch nach 4 Wochen teilweise stark ausgesprochene Hämolyse, teilweise schwache Hämolyse, teilweise Grünfärbung (Viridans).

Die Resistenz der Streptokokken ist wie diejenige der übrigen Streptokokken; in einem Falle erhielt sich eine Reinkultur über 4 Wochen, in anderen Fällen gingen die Kulturen nach 14 Tagen oder 3 Wochen ein; am besten überimpft man alle 6—8 Tage auf neuen Nährboden.

Ueber alle übrigen Fragen (geeigneter Blutentnahmetag, Prophylaxe mit den aus den Reinkulturen hergestellten mono- und polyvalenten Vakzinen, therapeutische Maßnahmen, Tierversuche usw. usw.) kann ich zurzeit noch nicht berichten, da die Untersuchungen und Versuche noch nicht abgeschlossen sind und noch weitere Untersuchungen nötig sind.

Ich beabsichtige, in einer größeren, demnächst erscheinenden Veröffentlichung teilweise auf diese Punkte einzugehen, teilweise erst nach Abschluß weiterer Untersuchungen.

Die Antwort auf die Frage, ist dieser beschriebene Streptokokkus als Erreger der Masern anzusehen oder ist er ein Begleitmikroorganismus, möchte ich die 3 Forderungen Kochs als Unterlage geben: Als Erreger einer Krankheit kommt ein Mikroorganismus in Frage 1) wenn er in allen Fällen gefunden wird, 2) wenn er in Reinkultur gezüchtet wird, 3) wenn mit dem Erreger in Reinkultur dieselbe Krankheit im Tierversuch erzeugt werden kann.

Die beiden ersten Forderungen können als erfüllt angesehen werden, soweit eine verhältnismäßig kleine Untersuchungszahl beweiskräftig ist.

Bei der 3. Forderung sind wir, ebenso wie z. B. bei der Lues und der Diphtherie, solange wir keine Menschenversuche wagen können oder zur Verfügung haben, auf Tierversuche angewiesen. Es ist aber der Tierversuch nur mit allergrößter Vorsicht als Beweis anzusehen. Es

Generated on 2019-09-15 11:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

fragt sich, ob die Tiere überhaupt für Masern empfänglich sind, für eine exanthematische Krankheit, die auf der „nackten“ Haut zum Ausdruck kommt; unsere Laboratoriumstiere brauchen sich mit ihrer behaarten Oberhaut hierfür gar nicht zu eignen, auch die Affen nicht.

Bei der Diphtherie erzeugen wir im Tierversuch niemals Hals- und Rachenerscheinungen; bei der Lues ist es sehr fraglich, ob Menschenlues auf Tiere übertragbar ist; bei der Tuberkulose liegen die Verhältnisse wesentlich anders, als Tiertuberkulose vorkommt und der Typus bovinus vielleicht nur eine Abart des Typus humanus ist.

Alle Tierversuche geben nur Auskunft, ob das betreffende Virus für das betreffende Tier pathogen ist; auch experimentelle Uebertragungen auf Menschen sind nicht absolut beweisend; bei der natürlichen Infektion spielt noch eine ganze Reihe anderer Faktoren mit; es fragt sich, ob wir bei unserer Unkenntnis über das Virulenzproblem experimentelle Menschenversuche mit Streptokokken überhaupt wagen dürfen.

Vielleicht läßt sich eine Art Antwort auf die Forderung Kochs geben, wenn es gelingt, mit der Masernstreptokokkenvakzine prophylaktisch oder therapeutisch einen deutlichen günstigen Einfluß auf die Masernerkrankungen zu gewinnen. Sollten die Streptokokken nur Begleitmikroorganismen sein, so müssen sie als regelmäßige Mischinfektionserreger gelten.

Erfahrungsgemäß beeinflussen die Streptokokken als die gefürchtetsten Mischinfektionserreger, z. B. bei Diphtherie, Tetanus, Tuberkulose usw., wesentlich das Krankheitsbild und den Verlauf, indem sie Gewebsschädigungen veranlassen, die das Wachstum der anderen bei dem Prozeß beteiligten Infektionserreger begünstigen; auch ist eine Virulenzerhöhung der Infektionserreger durch die Streptokokken möglich oder die Intensität der Vermehrung und der Giftbildung der Streptokokken kann durch die direkte und indirekte Wirksamkeit der eigentlichen Infektionserreger gesteigert werden.

Durch die Streptokokken kann eine nicht unwesentliche Verschlimmerung des Krankheitsprozesses bedingt werden, indem sie selbst Schädigungen herbeiführen oder die Gefahr der Sepsis machen; ihre Gifte addieren sich zu denen der eigentlichen Krankheitserreger.

Von diesen Gesichtspunkten aus muß den Masernstreptokokken die größte Beachtung geschenkt und der Kampf gegen dieselben aufgenommen werden.

Nach meinen Untersuchungen bin ich geneigt, in den von mir untersuchten Masernfällen den im Blute und Schüppchen gefundenen Streptokokkus in ätiologische Beziehung zu den Masernerkrankungen zu bringen und ihn als ursächlichen Krankheitserreger für die Masern anzusehen.

(Nach einem am 17. Mai 1923 in der Naturforschenden und Medizinischen Gesellschaft zu Rostock gehaltenen Vortrage.)

Abgeschlossen am 25. April 1923.

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Eine Blastomyces-Art aus einer Hautaffektion.

Von Dr. **Constantin Mutussis,**

Leiter des bakteriologischen Laboratoriums des Spitals Evangelismus in Athen.

Im November 1919 wurde von einer auf der chirurgischen Abteilung liegenden Patientin aus einer Hautaffektion eine Blastomyces-Art isoliert. Die Krankengeschichte, die auch seinerzeit von Dr. Kotsonopulos in der Athener Gesellschaft der Aerzte mitgeteilt wurde, ist folgende:

30-jähr. Frau aus einem Dorfe in der Nähe von Athen, verheiratet, im Hause tätig. Außer einer Mastitis nach der Geburt des 1. Kindes war Pat. immer gesund. Keine hereditäre Belastung. Vor 2 Jahren bemerkte sie an der Dorsalfläche des Handwurzelgelenkes der rechten Hand einen haselnußgroßen Knoten, der, anfangs derb, allmählich weich wurde und keine Druckschmerzhaftigkeit zeigte. Diese Geschwulst brach spontan auf; es entleerte sich eine Flüssigkeit und es blieb eine kleine Ulzeration zurück, die nach Curettement durch einen Arzt nach 2 Mon. heilte. Seit Juni 1919 bemerkte Pat. auf der Dorsalfläche der rechten Hand und an der Unterseite des Vorderarmes eine mehr oder minder starke diffuse Rötung der Haut und an verschiedenen Stellen Knötchen, die von selbst aufgingen. Einige heilten zu, während andere bestehen blieben und auch neue wieder aufschossen.

Bei der Aufnahme in die chirurgische Abteilung (Leiter: Dr. Kotsonopulos) konnte folgender Befund erhoben werden: Auf der Dorsalfläche des unteren Drittels des Vorderarms und der Hand bemerkte man mehrere Exulzerationen und einige Knötchen in diffuser Ausbreitung von Linsen- bis zu Fünfkronenstückgröße. Die Haut war verdickt und zeigte Narben. Die Bewegungen im Handgelenk etwas behindert, diejenigen der Finger frei. Außer diesen Veränderungen fühlte sich die Frau ganz wohl. Wassermannsche Reaktion negativ.

Die durch Punktion gewonnene Flüssigkeit eines Knötchens war serös-hämorrhagisch und zeigte reichlich Leukozyten. Die mikroskopische Untersuchung dieser Flüssigkeit in gefärbten Präparaten ließ außer roten und weißen Blutkörperchen stellenweise auch einige runde und elliptische Gebilde erkennen, die sich scharf von der Umgebung abgrenzten, nach Gram färbbar waren und manchmal in weißen Blutkörperchen lagen. Die Kultur dieser Flüssigkeit auf zuckerhaltigen Nährböden zeigte bei einer 6 Tage dauernden Bebrütung bei 22° weiße, runde Kolonien, die in den nächsten Tagen üppiger wurden, vom Nährboden sich abhoben, ganz weißlich erschienen. Unter Lupenvergrößerung beobachtete man, daß die Kolonien mehr körnig und von der Peripherie nicht scharf abgegrenzt waren.

Die mikroskopische Untersuchung von Präparaten, die aus diesen Kolonien hergestellt wurden, ergab rundliche und elliptische Zellen, daneben auch solche, die mehr wurstförmig aussahen und mehr oder minder starke Neigung zu Fadenbildung zeigten. Diese Zellen wiesen eine charakteristische Sprossung auf, und man bemerkte, daß von einer Zelle oft mehrere abgingen, ähnlich dem Vorgange bei Hefezellen.

Aus diesen Untersuchungen ging hervor, daß es sich um eine Hautblastomykose handelte, verursacht durch eine Hefeart, analog den von Buschke, Kartulis u. a. beschriebenen. Nach der Ansicht von de Beurmann und Gougerot können mehrere Hautaffektionen, die früher als durch Blastomyces hervorgerufen angesehen wurden, auch in die Gruppe der Sporotrichosen eingereiht werden. Das Sporo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

trichon zeigt nach diesen Autoren im Tierkörper, wenn es pathogen auftritt, die elliptische Form eines Hefepilzes, die manchmal bei künstlicher Kultur beibehalten wird. Diese, auf jeden Fall seltene Erscheinung wurde von diesen Autoren als „Pleomorphisme blastomycète, levure" (Les sporotrichoses, p. 133—136) bezeichnet. Ich dachte daher damals, daß es sich in dem vorliegenden Falle möglicherweise um einen solchen Pleomorphismus des Sporotrichon-Pilzes handeln könne. Zufolge dieser Vermutung verabreichte Dr. Kotsonopulos der Pat. größere Dosen von Jodkali (2—3 g täglich), welche Medikation innerhalb 6 Tagen eine bedeutende Besserung des Krankheitszustandes herbeiführte, so daß 2 Wochen nach Beginn der Behandlung die Pat. nach Hause entlassen werden konnte, mit der Weisung, bis zu ihrer vollständigen Heilung Jod weiter zu nehmen. Subkutane Injektion der Hefe führte bei einer Maus nach 4 Tagen zu lokaler Knötchenbildung, die sich unter Krustenbildung rückbildete.

Dieser Hefepilz wurde durch $3^1/_2$ Jahre weiter kultiviert. Während dieser ganzen Zeit hat er seine ursprüngliche Form beibehalten, er gedeiht bei Zimmertemperatur, und zwar zeigt er bei 25° auf zuckerhaltigem Nährboden schon nach 48 Std. üppiges Wachstum. Auf dem Nährmedium erscheint auf der Oberfläche ein weißer, schleimiger Belag, der sich mittels Oese leicht abheben läßt. In mehr als 2 Wochen alten Kulturen bemerkt man besonders zwischen Rand des Nährbodens und Glas, wenn man die Kultur unter schwacher Vergrößerung betrachtet, daß von den Kolonien anfangs kürzere Fäden ausgehen, die bei älteren Kulturen die Form von Myzelien annehmen. Es ist nach dem Vorstehenden nicht wahrscheinlich, daß es sich um eine Sporotrichon-Varietät handeln kann, da die ursprüngliche Form der Kulturen nicht in die des Sporotrichon übergeht, sondern die Blastomyces-Form streng beibehalten wird. Herr Prof. Gougerot, dem eine Kultur nach Paris zur Begutachtung geschickt wurde, äußerte sich dahin, daß bis jetzt keine Varietät des Sporotrichon bekannt ist, die in den Kulturen immer streng die Blastomyces-Form zeigt. Der von Gougerot beschriebene, oben angeführte Pleomorphismus von Sporotrichon muß eigentlich nach mehreren Ueberimpfungen in die Ursprungsform übergehen. Weiter meinte Prof. Gougerot in seiner Antwort, daß es interessant wäre, diese Hefeform genauer zu bestimmen.

In der letzten Zeit wurde die Kultur von Herrn Prof. Přibram und mir in der biochemischen Abteilung des Wiener serotherapeutischen Institutes untersucht. Wir konnten folgende Befunde erheben:

Makroskopisch zeigte die Kultur dasselbe, schon oben beschriebene Aussehen. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Trockenpräparate aus den jungen Kulturen zeigten sich weniger rundliche und mehr elliptische, daneben manche wurstförmige oder langgestreckte Zellen, die zu langen Fäden anwachsen, ohne aber ein echtes, verzweigtes Myzel zu bilden. Gelatine wird verflüssigt.

Zum Nachweis von Sporen fertigten wir eine Gipsblockkultur an, von der während 20 Tagen jeden 2. Tag ein nach Möller gefärbtes Präparat gemacht wurde. Auf die gleiche Weise wurden auch Präparate von älteren, versiegelten Kulturen hergestellt. Es ließen sich niemals Sporen nachweisen. In den nach Möller tingierten Präparaten haben wir in den Zellen säurefeste Gebilde gefunden, die ungleiche Größe und verschiedene Form zeigten und von denen manchmal mehrere, verschieden große in einer Zelle sich erkennen ließen. In flüssigen Medien

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hatte die Kultur mehr die Form eines Sproßpilzes. Die histologische Untersuchung ergab außer den nach Heidenhain färbbaren Zellkernen die bereits erwähnten säurefesten Einschlüsse, die sich nach der Methode von Zikes (Methylenblaufärbung nach Formalinfixierung) färbten, also als Volutin anzusprechen sind. Es sei hier erwähnt, daß die Kultur unbedingt 24 Std. lang in Formalin fixiert werden muß. — Nach Henneberg müssen Volutinkörperchen sich bei 80 auflösen. Dies war auch der Fall, wenn die Erwärmung im Wasserbade 1 Std. lang fortgesetzt worden war.

Zur Untersuchung des Gärungsvermögens dieses Mikroorganismus haben wir die Methode von Lindner angewendet. Wir benützten dazu 11 verschiedene Kohlehydrate, und zwar Mannit, Galaktose, Laktose, Dulzit, Maltose, Raffinose, Dextrose, Dextrin, Saccharose, Stärke und Lävulose, die wir auf sterile, hohle Objektträger brachten, und fügten noch eine Bouillon hinzu, die aus 100 Teilen Bouillon und 8 Teilen einer 1-proz. Kongorotlösung bestand. Auf jedem Objektträger wurde nach Beschickung mit dem Kohlehydrat und der Indikator-Bouillonlösung mit dem Hefepilz geimpft, das Ganze mit einem Deckgläschen zugedeckt und mit Paraffin umrandet. Wir stellten aber auch Kontrollversuche mit dem Kohlehydrat und der Indikator-Bouillon einerseits und der Indikator-Bouillon und dem Hefepilz andererseits an. Trotz öfterer Wiederholung des Versuches und Beobachtung durch mehrere Tage konnten wir bei keinem der verwendeten Kohlehydrate Säure- oder Gasbildung beobachten.

Aus dem Vorstehenden geht hervor, daß der Hefepilz morphologisch mehr der Monilia-Gruppe Plauts angehört. Nach Differenzierung, die auf Grund der Befunde von Sasakawa vorgenommen wurde, kann aber dieser Hefepilz biologisch in die Monilia-Gruppe nicht eingereiht werden, weil alle hierher gehörigen Pilze sämtlich Hexosen, Saccharose und Raffinose vergären. Wegen des vollständigen Mangels kohlehydratvergärender Fermente wäre unser Hefepilz in die 3. Kategorie der von Sasakawa angegebenen Gruppierung einzureihen, welche er wegen ihrer Uebereinstimmung mit den Torulae der Gärungsphysiologen (Klöcker) als „torulaartig“ bezeichnet hat. Wir haben es hier mit einem myzelbildenden Sproßpilz zu tun, welchen wir jedenfalls mit dem Namen Blastomyces (βλάστη = Sproß, μύκης = Pilz) bezeichnen können, da damit das morphologisch Charakteristische ausgedrückt wird. Gougerot will die zu Fadenbildung befähigten Sproßpilze als Zymonema ansprechen (ζύμη = Hefe, νῆμα = Faden); unter dieser Bezeichnung kann man aber nur Sproßpilze verstehen, die neben der Fähigkeit zu Fadenbildung auch gleichzeitig die zum Vergären verschiedener Kohlehydrate zeigen, ganz ähnlich der Monilia-Gruppe Plauts.

Literatur.

1) Bloch, Die allgemein-pathologische Bedeutung der Dermatomykosen. (Samml. zwangl. Abhandl., herausgeg. von Jadassohn. Bd. 2.) — 2) Buschke, Die Sproßpilze. (Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann. Bd. 5. 1913.) — Ders. u. Harry, Beitrag zur Frage der Sporulationsfähigkeit parasitischer und pathogener Hefen. (Dermat. Wochenschr. Bd. 76. Nr. 17.) — 3) Gougerot, Die Sporotrichosen. (Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann. Bd. 5. 1913. S. 211.) — Ders., Les Exascoses (Sonderabdruck). — Ders. et de Beurmann, Les Sporotrichoses. — 4) Henneberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 45. 1916. — 5) Lindner,

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

P., Mikroskopische Betriebskontrolle i. d. Gärungsgewerben. 3. Aufl. Berlin 1901. — 6) Plaut, Die Hyphenpilze oder Eumyceten. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Bd. 5. 1913.) — 7) Riceke, Die Dermatomykosen. Uebersichtsreferat. (Schmidts Jahrb. d. gesamt. Med. Bd. 329. 1919.) — 8) Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung d. Sproßpilze. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 17. 1895.) — Ders., Die pathogene Wirkung der Blastomyzeten. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 12, 21, 26 u. 29.) — 9) Sasakawa, Zur Systematik pathogener und parasitischer Hefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922.) — 10) Zettnow, Ztschr. f. Hyg. Bd. 90. S. 183.

Nachdruck verboten.

Bradsot or Braxy.

[From the Rowett Research Institute, Aberdeen.]

By **J. P. Mc Gowan,** M. A., M. D., B. Sc.

Designation.

It is agreed practically by everyone that the disease Bradsot, as it occurs in Iceland, Norway, etc., and Braxy, as it occurs in Scotland, are identical. Accordingly, in this article, the two terms will be used as interchangeable. The names imply an acutely fatal illness.

Distribution.

The disease occurs chiefly in the hilly and mountainous districts along the Western seaboard of Northern Europe, including thus the West of Ireland, part of England, Scotland, the Faroe Islands, the West of Norway, and Iceland. Cases are said to have been recognised also in Northern Germany (Jensen, 1), in Saxony [Miessner (2), Raebiger (3)], in Pomerania, West Prussia, Silesia and Posen (Miessner, 2). There is also mention in the reports of the Prussian Board of Agriculture of the disease having been observed in various parts of Germany. Gilruth (4 and 5) has found what he believes to be the disease in New Zealand and Tasmania, while Dodd (6) and Dakin (7) describe what may be the same condition in different parts of Australia.

Occurrence in Britain.

The literature dealing with the disease in Britain, as well as the circumstances of its occurrence, have been fully treated of elsewhere (Mc Gowan, 8), and it is, therefore, unnecessary to deal at length with it here. A short summary of the more important points may, however, be given. Discussions in lay journals have taken place regarding the disease for more than a century, conducted chiefly by laymen, such as shepherds. The disease occurs mainly in the hilly country, although cases also occur in low ground arable districts, especially when the sheep are feeding on turnips in the winter time. It prevails mostly towards the end of the year, in October, November, and December, but it also occurs, in lesser degree, at all times of the year. The excess occurrence in the hilly districts towards the end of the year is however so great that farmers are in the habit of sending away their susceptible

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sheep from such districts to pasture on low ground, near sea level. This is a routine method of dealing with the disease.

It occurs chiefly in sheep about eight months old, and these the fattest and best thriving in the flock. It is not, however, limited to sheep of this age. The most common predisposing cause of the disease is the eating by the sheep of frozen, succulent food (especially when it is covered with hoar frost), whether this be rank grass or turnip leaves, when sheep are folded on to a fresh lot of turnips on a frosty morning. This is not the sole predisposing cause, but those generally recognised are of a similar nature, namely, the exposure of the sheep to extremes of temperature within a very short interval of time. For this reason the disease occurs most frequently in changeable weather, and is not so likely to occur when the weather remains steadily of one type.

As regards the symptoms exhibited by the sheep, these are not pathognomonic of the disease: very often the sheep is never seen to be ailing, and is simply found dead. This occurs especially in the very acute cases, and particularly in the hilly districts where the sheep are seen at infrequent intervals. Sheep with the disease may, however, linger on alive for hours, and sometimes for a few days. The symptoms exhibited then are those of a septicaemia with high fever, sometimes with lung complications, meteorism, and evidence of great pain.

As to the post mortem findings in the disease, the records have mostly been made by laymen unaccustomed to differentiate post mortem from ante mortem changes. Hence there is great confusion. James Hogg, the Ettrick Shepherd (1807), and Wm. Hogg (1828), drew attention to the occurrence, in a large number of cases, of plum coloured spots in the wall of the fourth stomach. But they recognised that this lesion did not occur in every case. The disease was first investigated professionally by Hamilton, in the course of a Departmental inquiry which began in 1900 (11). Hamilton's work was based on that of Nielsen and Jensen, and discussion of it will therefore be delayed until their views are dealt with. It will be sufficient for the moment to say that Hamilton did not recognise the important part that putrefaction, which takes place with great rapidity in the sheep, especially if it is fat and in good condition, plays in covering up the essential nature of the disease.

The method of prevention of the disease by the removal of the sheep to low ground pasture during the season of prevalence has already been alluded to. Another method used is what is called the "Pig dung" treatment. Here the sheep are kept in their home pastures, and the treatment consists in administering by the mouth to the sheep, prior to the Braxy season, pig dung (the pigs having been fed in a special way, with cabbage leaves, etc.), mixed up with milk and strained, a certain amount of the liquid being given to each sheep. This procedure is recognised by all to produce good effects in regard to lessening the death rate from Braxy, but it has the disadvantage that it greatly reduces the condition and growth of the sheep by making them ill. Many farmers, on this account, hesitate to use it, and prefer to lose two or three sheep per score from Braxy, and to have the survivors in good condition, rather than have the whole twenty alive, and, at the end of the season, in the poor condition to which this treatment gives rise.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Occurrence in Iceland, Norway, etc.

The history of the disease in Iceland, Norway, etc. is mainly available through Jensen's writings and the Braxy Committee's report (loc. cit.). The subject would appear to have been discussed on numerous occasions in Icelandic literature since the middle of the 18th century. But, as these writings contain little of really scientific interest, and as they have been abstracted by the authorities just quoted, they may be passed over with mere mention. In 1888, however, Ivar Nielsen (vide Jensen) the Norwegian, described a bacillus, an anaerobe, found by him in the carcasses of sheep dead of Braxy, which he alleged to be the cause of the disease. It is interesting to note in this connection that, at this time; Nielsen had also described a "Black-leg-like" anaerobic organism, as the cause of a gaseous emphysema in whales (Heller, 12). This condition was produced in these animals by the whale fishers using harpoons which had been purposely dipped in putrefying material. Nielsen observed the haemorrhagic lesions in the fourth stomach (already noted by Hogg), and considered the disease to be an inflammatory condition of the fourth stomach. He accordingly designated it "Gastromycosis ovis". Nielsen's alleged causal organism was an anaerobic, motile, spore-bearer, which he states he found at times only in the haemorrhagic infiltration in the fourth stomach, and at other times throughout the other lesions of the body. Jensen (loc. cit.) later confirmed Nielsen's findings. His material was derived from cases in Iceland, the Faroes, Norway, Sweden, and Mecklenburg. The findings of Nielsen and Jensen have, however, been criticised by several German investigators. Thus Miessner (loc. cit.) in dealing with the subject, states that Jensen did not obtain his material for investigation from fresh cases of the disease. The material used was old, dried material, or material which had been preserved in some other way, and which had been sent to him thus from Iceland, the Faroe Islands, etc. He states that Jensen obtained his first pure culture of the organism he stated to be causal of the disease from the stomach of a sheep which had been preserved for eight weeks in spirit, and that Jensen, owing to the fact that Braxy does not occur in Denmark, had never himself seen a case of the disease occurring naturally: hence, he avers, Jensen based his theory on results obtained from material which had every possibility of being contaminated at the post mortem from the intestinal contents of the animal, and afterwards from various foreign matters with which it would come in contact in its journey to the investigator.

Jensen in his latest article (13) replies to these criticisms and states that, while it is true that he did cultivate the bacillus from a spirit preserved stomach, his chief material for the cultivation of his organism and the preparation of his vaccine, was derived from the juice of an organ which had been dried on a cover-glass, and transmitted to him thus. Miessner's criticism would, however, apply equally to this material. It would appear also that, even at the time of writing this article, Jensen had not yet seen a live or fresh case of Braxy, because he makes no mention of having done so. The work recorded in this paper deals with the histological examination of stomachs taken from Braxy cases killed in Iceland, preserved in formalin and forwarded to him. From his microscopical studies of these tissues, Jensen appears to draw the same deduction as before, that the con-

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dition in the stomach of these "fresh" cases is an inflammatory one, caused by the bacillus which he finds present in the sections. This is in answer to some of Miessner's criticisms. But such an interpretation is contrary to the view of Hamilton (loc. cit., who held similar views regarding the causal organism), for Hamilton states that the lesions in the stomach of Braxy cases are simply of the nature of haemorrhages, and show no signs of inflammation. Jensen indeed recognises the presence of the haemorrhages, but bases his idea of the inflammatory nature of the condition on the presence of a "barrier" of leucocytes beneath the mucosa, attracted thereto by the presence of the bacteria which he alleges to be causal. Quite another explanation, and one more in keeping with the facts, is possible however.

If one considers a haemorrhage, the presence of which is admitted by Jensen to be the essential lesion, as Hamilton states, such a haemorrhage may, by its size, or by its interference with the continuity of its own vessel, or by pressing on other blood vessels, interfere with the nutrition of the mucosa immediately overlying it, or at parts more distant. The vitality of such parts of the mucosa will be greatly reduced, and such devitalised tissues will be digested by the gastric juice. This combination, interruption of blood-supply and digestion, will then constitute these necrotic infarcts, and as they occur on a surface liable to contamination with all sorts of bacteria, putrefactive and otherwise, they will rapidly be invaded, like dead material elsewhere, by these bacteria. The process of absorption of such infarcts will attract leucocytes to the line of demarcation between living and dead tissue, giving rise to the barriers of leucocytes spoken of by Jensen. It will thus be seen that, on this line of argument, the leucocytes are not attracted by the bacteria, but that both are attracted by the dead or dying tissue, a condition of matters of universal occurrence in similar pathological processes.

In this paper, Jensen, still replying to Miessner, claims as support for the causal relationship of his organism to Braxy, the results obtained in Iceland from the prophylactic injection of a vaccine prepared from it. Thus of 287,055 sheep inoculated with his vaccine, and its modifications, the loss from the inoculation itself was 1,05 %, while there died later from Braxy 0,97 % of the inoculated animals, making altogether 2,02 %. Among 43,773 uninoculated control animals there died altogether 4,97 %. The difference shown here between the results obtained in the inoculated and uninoculated may be admitted, but this by no means implies, as Jensen would argue, that the organism from which the vaccine was prepared was the causal organism of Braxy. It will be seen, for instance, that 1,05 % of the inoculated animals died as the direct result of the inoculation. It is therefore a fairly safe deduction that, if this number died directly from the inoculation, the inoculation would make a large percentage of the remainder ill in varying degrees. Now it has already been mentioned (vide supra), that dosing the sheep with pig's dung, which surely cannot be suggested to contain the causal organism of Braxy, is very efficient in the prevention of Braxy, and that its method of operation is by making the animals ill, thus preventing them from feeding so greedily. There is here no specific relation between the causal organism of Braxy and the material used for its prevention.

Jensen admits that he has never produced Braxy by the feeding

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

or inoculation of his alleged causal organism, and states specifically that the artificial disease produced by the injection of his bacillus does not resemble the natural disease but is similar to Quarter ill.

Titze and Weichel (14) have also subjected Nielsen's and Jensen's views to criticism. They worked with the alleged causal organism, which had been supplied to them by Jensen, and came finally to the conclusion after extensive experimentation, that the Braxy bacillus could not be considered to be the cause of the disease, and that it was an anaerobic saprophyte which produced putrefaction in unopened carcasses. Hamilton's work was criticised at the same time, in a similar sense, so that nothing further need be said regarding it. Complete agreement was expressed by me (McGowan, 1915, 8) in a previous article, with the criticisms of Miessner, and Titze and Weichel, and stress was laid especially on the importance of avoiding, by every means possible, a confusion of the issues through putrefactive phenomena. The necessity, in crucial experiments, of seeing the diseased sheep when alive, was pointed out, and of obtaining the material for investigation immediately on the death of the animal. The results of these investigations will be described below.

In 1922 an article on the subject of Braxy was published by Gaiger (15). This writer would appear to claim that he was the first to appreciate the difficulties introduced into an investigation of this disease by putrefaction, and to act accordingly. This claim does not require more than mere mention. He would appear also to claim that he was the first to establish Braxy as a clinical entity and to show that it was, in reality, a condition of inflammation of the fourth stomach. It may be recalled however that Nielsen in 1888 had called the disease Gastromycosis ovis, from a similar conception of its nature. Apart from this too, an examination of the circumstances on which Gaiger bases his claim to consider the disease in this manner will show that in three, at least, of the twenty cases from which the generalisation is made, the record of its presence is extremely doubtful even if the term lesion is allowed in the very elastic sense which Gaiger affects. The question of whether this lesion, when it does occur, is an inflammatory one, has already been dealt with. Gaiger's technique for the isolation of his organism from the lesion in the wall of the fourth stomach, with which he supplants the methods of Jensen and Hamilton, can be appraised by those interested. It does not merit further discussion here, because, with a show of hyper-exactitude, it repeats in essence all the faults of these earlier workers.

Gaiger was unable to produce Braxy in sheep by the feeding or inoculation of his organism. He uses a preparation from the organism obtained by him as a means of prevention of the disease. This need not be further discussed, in view of what has already been said in connection with Jensen's preparation. Finally, Gaiger, while admitting his organism to be the same as Jensen's, would appear, by implication if not by actual statement, to claim precedence to Jensen in the matter of discovery regarding the disease, or, alternatively, to have placed Jensen's position on a logical basis. This is a point which, however, does not concern us here, beyond mentioning it, in-as-much as neither has produced any evidence that he has isolated the causal organism of the disease.

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Experimental Work.

In 1915 (loc. cit.) an account of an investigation into this disease was published by the writer. An outbreak had occurred in a flock of 500 lambs during the latter part of August and the whole of September. These lambs were feeding on rich clover aftermath, at a time and in a place where there were sharp night frosts. Out of this flock forty died, and a post mortem was done on one of them under ideal conditions, for it died just as it was being lifted on to the post mortem table. Observations had been made on it during life, the post mortem was done in the laboratory of a large institution, and the fact of its dying spontaneously did away with any necessity of introducing complications by killing it by bleeding, or otherwise. (Thus the culture obtained from the heart blood in this case, being taken directly from the heart with a sterile pipette, without the animal having been previously bled, could not have been contaminated.) The post mortem was performed immediately after death. The animal was found to be very fat, and haemorrhages were present in all the muscles of the body, in all the serous membranes, on the surface of the heart and in the wall of the fourth stomach. There was blood-stained effusion into the pericardial sac. Acute congestion of the lungs was present. The spleen was not enlarged, but contained haemorrhages. The kidneys, even so soon after death, were in a very soft condition. There was no gas present in the tissues, and no smell. Smears from various organs showed the absence of anything of the nature of large bacilli. From the lungs especially, but also from the heart-blood, there was obtained in pure culture, without contamination, the Bacillus bipolaris septicus ovium. This organism gave all the typical reactions of its kind, and on injection into rabbits reproduced exactly the condition found in the original sheep. It was also inoculated subcutaneously into the groin of three sheep, one of which died in eight hours, another in about fifteen hours, and the third in less than forty-eight hours. The temperature was raised in all, subsequent to injection, in one case being over 107° F. There was no reaction at the point of inoculation. Haemorrhages, large and small, were present throughout the body, in the body muscles and on the surface of the heart. The two lobes of the lung were solid, so great was the haemorrhage that had taken place into them, and the animal showed bleeding from the nostrils. The wall of the fourth stomach showed numerous haemorrhagic spots, some of large size, which, seen from the outside, were of a plum colour. The intestines showed marked inflammation with numerous haemorrhagic spots, and an inflammatory exudate on the surface of the mucosa. There was no evidence of diarrhoea. The pericardial sac, the pleura, the peritoneal cavity, were distended with blood-stained fluid. The spleen was not enlarged.

Such were the findings when the animal was examined immediately on death. Where, however, the animal had lain for a few hours after death, there were the following additional appearances. The body was greatly distended, the abdomen like a drum, and the legs sticking out "one at each corner". Blood stained froth was coming from the nostrils, together with regurgitated food, and gas was escaping from the anus. The various organs of the body, especially the liver, were emphysematous. The kidneys were diffluent, and "ran" through the fingers. The rumen was filled with frothing grass, and was blown up tight with gas. Its

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lining came off in large flakes. When the abdomen, and more especially the apartments of the stomach were opened, a very foetid odour was given off. The body, as a whole, was very red in colour, on account of stagnation of the blood, and the soaking of the tissues with the haemoglobin from the lysed corpuscles.

Such appearances as these last described are those by which Braxy is usually recognised. Yet they are all the result of putrefaction, and are entirely absent if the animal is examined immediately after death. It goes without saying, moreover, that they have nothing to do with the condition from which the animal died.

Associated with these latter changes could be found by microscopical examination, in every part of the body, even the most distant, large anaerobic organisms belonging to the group which Nielsen and others have held to be the cause of the disease. It should also be noted in passing, again, that these organisms were not present at all in the fluids of sheep which had died of the natural or the experimental disease, and which were examined immediately on death.

Microscopic examination of sections of the red patches on the stomach wall showed them to be simple effusions of blood, containing large rod-shaped putrefactive bacteria, thus negativing the idea that the condition of the stomach wall is an inflammatory one.

In addition to the cases here described in detail, the Bacillus bipolaris septicus ovium was obtained in pure culture from the lungs and heart-blood of eight other cases of Braxy from various districts in Scotland. Some of these cases occurred among sheep feeding on turnips and grass on the low grounds, while others were obtained from sheep pasturing in hilly districts.

From these observations it would appear that Braxy corresponds to the peracute form of Haemorrhagic septicaemia. The lesions in the stomach which Nielsen, Jensen and Gaiger held to be characteristic of the disease, would therefore be haemorrhages (as observation shows them to be), which occur in various places in this disease, and from which the disease takes its name. These haemorrhages are, however, not constant as to the site in which they occur, and they do not occur in all cases of Haemorrhagic septicaemia. The same remark applies also to Braxy.

It may be mentioned that Raebiger (loc. cit.) stated that he had difficulty in judging of the efficacy of Jensen's vaccine against Braxy in Saxony, because of the existence there of another disease with exactly similar clinical symptoms and post mortem appearances, namely Haemorrhagic septicaemia. It is significant also that while, in Germany, the articles in the literature on Haemorrhagic septicaemia in the sheep are numerous, and those on Braxy few in number, in Britain and the Scandinavian countries the position is exactly reversed. It is hardly likely that such a wide-spread disease as Haemorrhagic septicaemia in the sheep should show such a selective distribution. Further, the occurrence in Scotland of the less acute forms of this disease have been observed and recorded by me personally, e. g. the pneumonic and nervous forms as they occur in Louping ill (16). The very chronic form of the disease was also found, where the sheep is emaciated and cachectic, and where the Bacillus bipolaris septicus was obtained in pure, uncontaminated cultures from the chronic pneumonic conditions in the lungs.

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Observations made on the clinical symptoms and epidemiology of the disease during this investigation, confirmed the statements already made in the beginning of this paper. From the natural history of its occurrence there can be little reasonable doubt that in Scotland the term Braxy includes practically only one definite disease. This aspect of the question has been discussed more fully in connection with an allied disease in Hares in Scotland (McGowan, 17). On the Continent however, there would seem to be doubts on this point. Miessner (loc. cit.) examined preparations by Sonnenberg, who thought that some cases of the disease might be piroplasmosis. Miessner could not substantiate Sonnenberg's view. But he, along with Titze and Weichel, thinks that the term Braxy, as used in Germany, may include several diseases whose real nature is obscured by the putrefactive changes occurring.

Factors giving rise to the disease.

The relationship of the Bacillus bipolaris septicus to the disease having been dealt with, there remains to be discussed the exact method by which the disease comes about, and the possible explanation of the epidemiological facts in terms of this conception. In the first place it is well known that the Bacillus bipolaris septicus occurs in the respiratory passages of a large percentage of normal sheep, much in the same way as the Pneumococcus occurs in human beings. Again, Braxy is known not to be an infectious disease. When cases occur in groups these cases are not related to one another except in that they are brought about by some common secondary factor acting on the several individuals at one time. Further, Braxy in the great majority of cases in Scotland, follows the consumption by the sheep of succulent, juicy food, when it is covered by hoar frost. This procedure causes a shock to the system and lowers the vitality, which enables the Bacillus bipolaris septicus to fasten on, much in the same way as the Pneumococcus causes Pneumonia in human beings.

Thus the optimum conditions for an outbreak of the disease would be the concomitance of sheep eager to feed, the occurrence of hoar frost, and the presence of succulent food. Now, it has already been stated that the sheep most liable to the disease are the fat, growing and thriving young sheep, and their thriving state may be taken as cause and consequence of their good appetites. They are greedy feeders. Further, for reasons which need not be gone into fully here, as they are discussed elsewhere (McGowan, 18), hilly districts are par excellence, on account of the altitude, the clearness of the atmosphere, and the associated valleys, situations for the formation of hoar frost, and in these hilly districts themselves, hoar frost formation takes place to the greatest extent at the bottom of the valleys, where there is comparative stillness, and where the water courses and marshes are. At the bottom of the valleys too, owing to the greater depth and fertility of the soil and the presence of the water courses, the vegetation is much superior and ranker. It will therefore be seen that, at the bottom of the valleys in hilly districts, there is an optimum combination of the factors necessary for the production of Braxy.

It has already been stated that the time of year for the maximum occurrence of Braxy is during the months of October, November and December. Those are the months of heaviest rainfall on the Western

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

shores of Northern Europe. But the rainfall, per se, is not the factor here involved. It however indicates the presence of a high percentage of moisture in the atmosphere, and the consequent ready formation of hoar frost when temperature of the air falls. The prevailing wind on the Western shores of Europe at this time of year is the South-West wind, which is notoriously a moisture-bearing wind.

At this time of the year also the weather is very changeable. Often there is sunshine or rain during the day, changing over to frost at night. As has already been mentioned Braxy is known to be a disease of changeable weather. It is not nearly so prevalent when the weather is of a fixed type over long periods.

These considerations then appear to explain the distribution of Braxy with its maximum incidence along the hilly and mountainous districts of the Western seaboard of Northern Europe, and during the later part of the year. Braxy would appear to be in the main a disease of topography and geographical situation.

It must not be thought, however, that Braxy is always caused by the eating of frosted food. Exposure to extremes of temperature within a short period of time, or excessive chilling will also bring it about. In this connection it may be mentioned that Nielsen found that the great predisposing cause of Braxy in Norway was the shearing of the sheep for the second time in the Autumn, and turning them out at once to the pastures. Hilly districts are again the places where this chilling comes about most readily. Such a topography even in an island, changes the oceanic type of climate to the continental in this sense that there is a great variation between day and night temperature. Under these conditions the milder and more chronic forms of Haemorrhagic septicaemia, such as Louping ill etc. would appear to occur however in preference to the hyperacute form, Braxy.

Where Braxy occurs on low ground farms, in the flat areas, this is usually the result, as already mentioned, of folding the sheep on growing turnips with their leaves intact, on a frosty morning. They eat greedily the frozen, juicy leaves, with the result that Braxy ensues.

In closing this section, it would be well again to emphasise the fact that the routine method of dealing with the disease is to remove the susceptible sheep from their home pastures to the flat arable pasture land on the low grounds. Here the conditions are more equable, there is less swing in temperature between day and night, and the other conditions described as predisposing to Braxy in the hills, depending on the topography, are little in evidence.

Prophylactic measures.

No opportunity has been available for the testing of a vaccine prepared from the Bacillus bipolaris septicus as a prophylactic against Braxy. Hence there is nothing to record under this heading. It should be noted however that an intelligent use of measures devised to meet the secondary and predisposing factors, can meet with, and has met with a very considerable success. In the uplands this takes the form of keeping the sheep up on the hill-tops during the night, and not allowing them down into the valleys until the frost has disappeared from the grass; and, in the low grounds, where the sheep are more under control, in preventing their access at any time to succulent food when it is covered with hoar frost.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Conclusions.

1) The disease Bradsot or Braxy is the hyperacute form of Haemorrhagic septicaemia, and is caused by the Bacillus bipolaris septicus. — 2) An explanation of its geographical distribution is given, and the importance of secondary factors in bringing it about is emphasised.

References.

1) Jensen, Kolle u. Wassermanns Handbuch. Bradsot. Bd. 6. 19 3. — 2) Miessner, Mitt. d. Kais. Wilhelm-Inst. f. Landwirtsch. in Bromberg. Bd. 1. 1909. S. 217. — 3) Raebiger, Ber. üb. d. Tätigk. d. Bakteriol. Inst. d. Landwirt. f. d. Prov. Sachsen 1911—1912. — 4) Gilruth, Proc. Austr. Assoc. Dev. of Science. Vol. 13. 1911. p. 567. — 5) Ders., The Vet. Journ. Vol. 66. 1910. p. 254 and 355. — 6) Dodd, Journ. Compar. Path. and Ther. Vol. 31. 1918. p. 1. — 7) Dakin, Scott. Journ. of Agricult. Vol. 111. 1920. p. 275. — 8) Mc Gowan, Transact. Highland and Agricult. Soc. of Scotland. 1915. — 9) Hogg, James, Shepherds Guide 1807 and Transact. High. and Agricult. Soc. Scotland. 1807. — 10) Hogg, William, Transact. High. and Agricult. Soc. Scotland. 1828—29. — 11) Hamilton, Board of Agricult. and Fisher. Braxy Committ. Report. Part II. London 1906, and Transact. High and Agric. Soc. Scotland. 1902. — 12) Heller, Journ. Infect. Dis. Vol. 27. 1920. p. 443. — 13) Jensen, Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere. Bd. 17. 1915. — 14) Titze u. Weichel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 36. 1910. — 15) Gaiger, Journ. Compar. Path. and Ther. Vol. 35. 1922. — 16) Mc Gowan, The Veter. Journ. Vol. 79. 1923. p. 141. — 17) Ders., Scott. Journ. of Agricult. Vol. 4. 1921. — 18) Ders., Transact. High. and Agricult. Soc. 1920. p. 56.

Nachdruck verboten.

Zur Nomenklatur der Pferdebandwürmer (Anoplocephalidae).

Von Dr. **Rudolf Becker** in Uelzen (Hannover).

Im Laufe der Zeit hat die wissenschaftliche Benennung der Pferdebandwürmer, insbesondere der beiden größeren Arten, einen mannigfachen Wechsel erfahren. Die natürliche Folge hiervon war das Auftreten zahlreicher Synonyme, von denen sich ein Teil bis in die neueste Zeit hinein unverändert in den Lehr- und Handbüchern der Pathologie, pathologischen Anatomie, Parasitologie und Zoologie erhalten hat. Einerseits versteifte man sich vielfach auf den alten Gattungsnamen Taenia, obwohl die vergleichende Anatomie die Sonderstellung dieser Parasitengruppe im System der Cestoden längst klargestellt hat, wonach sich diese in ihren anatomischen Merkmalen von den echten Täniiden mindestens ebenso sehr unterscheiden, wie ihre entsprechenden Wirtstiere voneinander verschieden sind, also mit Recht Anspruch auf einen besonderen Gattungsnamen haben. Andererseits wurden immer wieder von den einzelnen Autoren je nach den benutzten Quellen verschiedene Artnamen für die nämlichen Arten angewandt, so daß sich spätere Bearbeiter dieses Gebietes jedesmal vor eine schwierige Entscheidung gestellt sahen und gelegentlich ihrer Unsicherheit in der gewählten Benennung durch Beifügung mehrerer Synonyme Ausdruck gaben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Solche Zustände konnten einem stetigen Fortschreiten in der Kenntnis dieser Parasiten nur hinderlich sein, und tatsächlich sind infolge dessen mehrfache Verwechselungen sowie irrtümliche und mißbräuchliche Anwendungen der einzelnen Artnamen vorgekommen Noch heute macht sich das Fehlen einer einheitlichen Nomenklatur in systematischer wie praktischer Hinsicht unangenehm bemerkbar und steht zu befürchten, daß eine mit dem Wiederaufblühen parasitologischer Forschung vielleicht schon in Kürze zu erwartende Herausgabe neuer Werke die alten Namen nach Belieben weiterpflegen wird, wenngleich die richtigen Bezeichnungen zoologisch feststehen und nunmehr zu allgemeinem Gebrauch gelangen müssen. Der Umstand, daß nicht überall die Möglichkeit besteht, an Hand der Literatur ein sicheres Urteil über die korrekteste und zugleich historisch älteste Nomenklatur zu gewinnen, möge die folgende geschichtliche Betrachtung rechtfertigen.

Die beiden größeren Bandwurmarten des Pferdes wurden schon ziemlich früh bekannt, jedoch anfangs als Formen einer einzigen Art — Taenia equi — beschrieben. Der erste Beobachter, O. F. Müller (1780), fand im Magen eines Pferdes eine Anzahl von Bandwürmern, von denen er 1 Exemplar von 10 Zoll Länge wegen seiner Größe besonders erwähnt. 1 Jahr darauf hat Pallas (1781) ebenfalls im Magen von Pferden Bandwürmer von 2 verschiedenen Größen angetroffen. Hiervon gibt er unter dem Namen Taenia equina eine ausführlichere Beschreibung: „Die meisten sind zwischen 1 und 3 Zoll lang, nach hinten zu lanzettförmig zugespitzt, doch stumpf, vorn hingegen etwas breiter und stumpf abgerundet." Nur wenige Tiere waren 5 und 6, ein einziges über 10 Zoll lang und hinten breit abgeschnitten. Sie hatten da, wo der Kopf ansitzt, auf jeder Seite zwei ziemlich beträchtliche Fleischwarzen, wovon Pallas bei den großen keine Spur wahrnehmen konnte. Auch aus einer beigefügten Abbildung geht deutlich hervor, daß ihm beide Arten vorgelegen haben. Die Benennung Taenia equina wird im gleichen Sinne von Chabert und von Goeze (1782) übernommen. Letzterer hebt das blattartige Aussehen der Glieder besonders hervor und, indem er sie mit den Fühlerblättchen eines Maikäfers vergleicht, fügt er dem Namen die Erläuterung **„perfoliata"** hinzu. Auch diesem Autor haben, nach seiner Beschreibung zu schließen, einige Bandwürmer „ohne Fleischlappen am Kopfe" und einige „Strecken ohne Kopfenden, deren Glieder nicht so blättrig aufeinander lagen" vorgelegen. Erst Abildgaard (1789) führt die scharfe Trennung beider Arten durch, welche er Taenia **magna** und Taenia quadrilobata nannte. Zeder (1800) gibt eine sorgfältige Beschreibung der Arten und ändert die Namen in Alyselminthus plicatus und A. lobatus, später (1803) in Halysis plicatus und H. lobatus ab. Um dieselbe Zeit hat Gmelin (?1800) in der von ihm herausgegebenen 13. Auflage von Linnés Systema Naturae, sich an Abildgaard haltend, beide Bandwurmarten getrennt als Taenia magna und Taenia quadrilobata aufgeführt, aber zu den bewaffneten Tänien gezählt, einige Seiten weiter nennt er dann in der Gruppe der hakenlosen Tänien eine Taenia equina als besondere 3. Art von Pferdebandwürmern, wobei er offenbar auf Pallas zurückgeht. Rudolphi (1808—1810, 1819) hat die Arten als Taenia plicata und Taenia perfoliata übernommen und mit lateinischen Artdiagnosen versehen.

Einen systematisch wichtigen Schritt hat dann E. Blanchard (1848)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

getan, als er für die hakenlosen Bandwürmer des Pferdes und Hasen die neue Gattung **Anoplocephala** aufstellte und von der Gattung Taenia abtrennte, nachdem schon Bremser (1824) die „Taeniae inermes“ den „Taeniae armatae“ gegenübergestellt hatte. Blanchard legt dabei vor allem Gewicht auf die Hakenlosigkeit des Scolex, die charakteristische Kürze der Glieder nebst ihren anatomischen Folgen sowie auf den „birnförmigen Apparat“ der Eier.

Leider blieb diese Trennung in der Folgezeit von den Autoren gänzlich unbeachtet, welche durchweg an der von Rudolphi angegebenen Nomenklatur festhielten. Sogar Kahane (1880) gebraucht in seiner Spezialarbeit noch die Bezeichnung Taenia perfoliata Goeze, obwohl Blanchard als Typus seiner neuen Gattung gerade **Anoplocephala perfoliata** [Goeze][1]) gewählt hatte. Für die größte Art hat erst Balß (1908) den korrekten Artnamen **Anoplocephala magna** [Abildgaard][1]) festgelegt, nachdem schon früher unabhängig voneinander einerseits R. Blanchard (1891) den Gattungsnamen, andererseits Scheibel (1895) den Artnamen berichtigt hatten.

Die Benennung der dritten Art hat nicht die vielen Wandlungen durchgemacht, doch sind auch hier Irrtümer entstanden. Sie wurde wegen ihrer geringen Größe und ihrer relativen Seltenheit in Westeuropa erst viel später aufgefunden. Gurlt (1831) beschreibt sie zuerst als Taenia mamillana Mehlis. Unter gleichem Namen folgt die ausführliche anatomische Untersuchung durch F. Zschokke (1888). Sodann reiht sie R. Blanchard (1891) in die Gattung Anoplocephala ein, zu welcher er sowie Stiles (1897) noch eine Anzahl anderer Arten hinzufügen. Was Dujardin (1845) als Taenia perfoliata beschreibt, ist ganz bestimmt nicht diese Art, sondern **Anoplocephala mamillana** (Mehlis) gewesen, die er noch nicht dem Namen nach kannte. Das geht aus seinen Worten wie Abbildungen deutlich hervor. Eine verhängnisvolle Folge hat diese Verwechselung insofern gehabt, als bald darauf einige französische Forscher (Davaine, Baillet u. a.) die wirkliche Anoplocephala perfoliata neu auffanden und erst berichtigt werden mußten.

Auf einen weiteren Irrtum möchte ich kurz hinweisen. v. Linstow zählt in seinem „Kompendium der Helminthologie“ (1878) als Pferdeparasiten noch 2 weitere Bandwurmarten, Taenia pediculata und Taenia strangulata, ohne Autoren- bzw. Literaturangaben auf. Es ist anzunehmen, daß hiermit die beiden eigentümlichen **Formvarietäten** gemeint sind, in denen Anoplocephala perfoliata gelegentlich vorkommt. Welche Bildungsursachen diesen morphologischen Abweichungen von der „Normalform“ zugrunde liegen, konnte bislang nicht ermittelt werden, neue Arten sind es jedenfalls nicht.

Die Systematik unterscheidet im ganzen nur 3 Cestodenarten des Pferdes, für welche Railliet und Stiles zwecks leichter Orientierung folgenden Bestimmungsschlüssel aufgestellt haben:

1. a) Kopf mit hinteren Lappen, 2—3 mm breit; Strobila 8 bis 25 cm lang, 3—15 mm breit . . . . A. perfoliata
   b) Kopt ohne Anhangslappen . . . . 2.
2. a) Kopf, 4—6 mm breit; Strobila 9—80 cm lang, 5—20 mm breit A. magna
   b) Kopf weniger als 1 mm breit; Strobila 6—30 mm lang, 4 bis 6 mm breit . . . . A. mamillana

1) Die Autorennamen sind in Klammern zu setzen, weil nur die Artbezeichnung von ihnen herrührt.

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Anhangsweise sei erwähnt, daß der Name Taenia magna von Murie (1870) auf einen Bandwurm des indischen Rhinoceros übertragen wurde, dessen Identität mit der von Peters (1856) gefundenen Taenia gigantea Pet. aus dem afrikanischen Rhinoceros später (1871) von letzterem selbst konstatiert wurde. Er nannte sie nunmehr Plagiotaenia (1891 Plagotaen-ia) gigantea Pet. Weiterhin hat Garrow (1877) eine scheinbar etwas abweichende Tänie des Rhinoceros sundaicus (Java) als identisch mit ebengenannter Art angesprochen. R. Blanchard (1891) hat sie mit zur Gattung Anoplocephala gestellt und Mac Callums sowie Deiner (1912) haben fast gleichzeitig ausführlichere, etwas differierende Schilderungen der Anatomie geliefert. Nur müßte der korrekte Name dann nicht Anoplocephala latissima Deiner, sondern **Anoplocephala gigantea** (Peters) lauten. Ein genauer Vergleich mit A. magna ergibt weitgehende Uebereinstimmungen im Bau, vielleicht läßt sich gar die Identität beider Arten nachweisen.

Zur Gattung Anoplocephala rechnet R. Blanchard auch **Anoplocephala zebrae** (Rudolphi), doch ist diese wahrscheinlich mit A. perfoliata identisch. Die Beschreibung von Collin (1891) ist nur unvollständig, da seine hauptsächlichsten Unterscheidungsmerkmale — dreieckige Form der 4 Kopflappen mit starker Querfaltenbildung sowie eine gedrängtere Anordnung der Glieder — sich unschwer durch stärkere individuelle Muskelkontraktionen erklären lassen. Andererseits hat bereits Sander (1779) einen sehr breiten gezähnelten Bandwurm aus dem Zebra gekannt, den Goeze für verwandt mit den Pferdebandwürmern hält (nach Batsch 1786), es ist offenbar ein Exemplar von A. magna gewesen.

1911 hat Mello einen kleinen Bandwurm des Fasanen als **Anoplocephala minima** Mello neu beschrieben, jedoch erheben sich berechtigte Zweifel gegen dessen Zugehörigkeit zur Gattung Anoplocephala, vor allem weil die Genitalöffnungen nicht an ein und demselben **Gliedrande** liegen, sondern regelmäßig abwechselnd links und rechts.

Die ausführliche Charakteristik der Gattung Anoplocephala E. Blanchard lautet nach Braun (1894—1900) folgendermaßen:

„Glieder erheblich breiter als lang; Genitalien einfach, Genitalpori stets an demselben **Gliedrande;** Hoden und Keimstock im Mittelfeld, erstere auf der dem Porusrand entgegengesetzten, letzterer auf der Porusseite; Uterus eine quergelagerte Röhre mit flaschenförmigen Anhängen; Cirrus nnd Vagina kreuzen die Markstränge (= Hauptlängsnerven) und die Längsstämme der Exkretionsorgane. Eier mit wohlentwickeltem, birnförmigem Apparat."

R. Blanchard hat diese Gattung zusammen mit einer Anzahl verwandter Tänien, zum Teil als neue Gattungen (Bertia, Moniezia), in der selbständigen Subfamilie der Anoplocephalinae untergebracht, welcher Railliet (1893) Andrya, Ctenotaenia (später Cittotaenia genannt), Stilesia und Thysanosoma einreihte. Endlich hat Perrier (1897) noch Amabilia und Plagiotaenia hineingenommen, von denen letztere durch R. Blanchard zur Gattung Anoplocephala gestellt wurde. Braun zählt im ganzen 8 Gattungen zur Unterfamilie der Anoplocephalinae R. Blanchard: Anoplocephala, Andrya, Bertia, Cittotaenia, Linstowia, Moniezia, Stilesia, Thysanosoma. In neuester Zeit sind noch einige

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

weitere hinzugekommen. Als Merkmale werden von Braun aufgezählt:

„Kopf meist kugelig, seltener gestreckt, unbewaffnet; Saugnäpfe verhältnismäßig groß; Hals fehlt; Glieder kurz und breit; Genitalien einfach oder doppelt; Genitalpori randständig; Uterus quergelagert und röhrenförmig oder netzförmig; Eier **gewöhnlich** mit birnförmigem Apparat; Entwicklung unbekannt; in Säugetieren (Affen, Wiederkäuer, Perissodactyla und Beutler) vorkommend."

In jüngster Zeit verlieh die Systematik (Braun-Fuhrmann, nach Claus-Grobben (Lehrb. d. Zool. 9. Aufl. 1916) dieser Cestodengruppe, welche von Railliet (1885) als Anoplotaeniae bezeichnet wurde, innerhalb der 5. Tribus Cyclophyllidea, den Rang einer selbständigen Familie **Anoplocephalidae** neben der Familie Taeniidae, von der sie sich wesentlich unterscheidet. Diese Maßnahme ist entschieden als ein wichtiger Fortschritt zu betrachten, jedoch weiter vermag ich dem neuen System nicht zu folgen. Seinerzeit hat L. Cohn (1899) aus seinen Untersuchungen über das Zentralnervensystem der Cestoden Gründe für das primäre Fehlen der Skolexhaken bei Anoplocephaliden und damit zugleich für ihr phyletisch hohes Alter hergeleitet. In diesem Sinne hat man nunmehr diese Familie in unmittelbarer Nähe offenkundig primitiver Familien (Mesocestoididae, Fimbriariidae) gestellt, während die Täniiden am Ende der Entwicklungsreihe stehen. Meine eigenen Untersuchungen (1921) haben mich dazu geführt, ein sekundäres Fehlen der Haken anzunehmen, während solche bei den Stammformen noch vorhanden gewesen sein müssen. Auch sonst zeigt der feinere Bau der Pferdebandwürmer nirgends besonders primitive Verhältnisse, welche auf ein verhältnismäßig hohes Entwicklungsalter schließen ließen. Eher wird man zur Annahme einer ausgesprochenen Einseitigkeit in der Ausbildung der Organe geleitet, vor allem die Kürze und Breite der Proglottiden, die einseitige Lage der Genitalöffnungen und die Querlagerung des Uterus bekunden dies. Damit erhielten die Anoplocephaliden ihren Platz im System noch hinter den Täniiden, eine Stellung, welche derjenigen ihrer Wirtstiere Ungulaten bzw. Carnivoren entspricht. Ein Parallelismus in der Stammesgeschichte der Parasiten und ihrer Wirte ist hier unverkennbar.

Literatur.

Balß, H., Ueber die Entwicklung der Geschlechtsgänge bei Cestoden usw. (Ztschr. wiss. Zool. Bd. 91. 1908. S. 266—296.) — Becker, R., Beiträge zur Kenntnis des Nervensystems der Pferdebandwürmer usw. (Zool. Jahrb. Bd. 43. Anat. 1921. S. 171—218.) — Braun, M., Cestodes. (Bronns Klass. u. Ordn. des Tierreichs. Bd. 4. 1894—1900 [ältere Literatur].) — Cohn, L., Untersuchungen über das zentrale Nervensystem der Cestoden. (Zool. Jahrb. Bd. 12. Anat. 1899. S. 89—160.) — Deiner, E., Anatomie der Anoplocephala latissima nov. spec. (Arb. Zool. Inst. Wien. Bd. 19. 1912. S. 347—372.) — Fiebiger, J., Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere. 2. Aufl. 1923.) — Gurlt, F. E., Lehrb. der patholog. Anat. d. Haus-Säugetiere. Bd. 1, 1831—1832. — MacCallum, G. A., and W. G., On the structure of Taenia gigantea (Peters). (Zool. Jahrb. Bd. 32. Syst. 1912. S. 379—388.) — Mello, U., Anoplocephala minima n. sp. del Fagiano. (Monit. Zool. Ital. Anno 23. 1911. S. 124—130 [Ref. Zool. Jahresber. Neapel. 1912. S. 46].)

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber „erzwungene“ Antagonisten.

[Laboratorium des Ukraïnischen Roten Kreuzes.]

I. Mitteilung.

Von Dr. **Ignaz Schiller,** Odessa.

In einer Arbeit „Sur les produits des microbes en association“, die 1914 in dieser Zeitschrift erschien[1]) und im Laboratorium von Prof. Metschnikoff ausgeführt worden ist, berichteten wir über den Antagonismus eines azidophilen Bazillus verschiedenen Kokken gegenüber.

Dieser Bazillus scheidet in Gegenwart von Kokken, und zwar speziell von Streptokokken, eine bakterizide Substanz aus, deren Wirkung sich ebenso in gewöhnlicher Nährbouillon wie in Bouillon mit Kohlehydraten zeigt, so daß die Vernichtung der Kokken nicht auf die schädliche Wirkung des Säuregehaltes des Milieus zurückzuführen ist. Diese Art von Antagonismus bezeichnen wir als natürlichen, d. h. als solchen, der unabhängig von der Versuchsperson zutage tritt.

Dagegen nennen wir als erzwungenen Antagonismus diejenige Erscheinung, bei welcher 2 Bakterien, die für gewöhnlich ganz gut zusammengedeihen, unter solche künstliche Bedingungen gestellt werden, daß zwischen ihnen ein Existenzkampf entstehet und die eine der anderen zum Opfer fällt.

Hier beschäftigen wir uns ausschließlich mit dieser Art von Antagonismus, und zwar mit derjenigen, die zu einer Verdauung von lebenden Bakterien führt.

Das Studium der erzwungenen Antagonisten ist, wie wir darlegen werden, von großem biologischen und möglicherweise auch von praktischem Interesse, weil die erzwungenen Antagonisten die Fähigkeit besitzen, bakteriolytische Substanzen gegen pathogene Bakterien zu sezernieren. Dabei ist es vollständig gleich, ob der aktive Antagonist ein Saprophyt oder Parasit ist.

Die erzwungene Verdauung einer lebenden Bakterie durch die andere kann nur erreicht werden, wenn wir die biologischen Verhältnisse beider genau kennen und sie in der Weise ausnützen, daß bei vollständiger Passivität (erzwungener) der einen die größte Aktivität der anderen gewährt wird.

Unsere vorliegenden Versuche beziehen sich nur auf die grampositiven Bakterien und auf das verschiedene Verhalten der Bakterienarten den Eiweißmolekülen gegenüber. Wir gingen dabei von folgenden Erwägungen aus: Haben wir in einem stickstofffreien Milieu 2 Bakterien, von denen die eine proteolytische, die andere aber nur peptolytische Eigenschaften aufweist, so wird die 1. bei der Suche nach Nahrung ihr proteolytisches Vermögen ausnützen und die 2. zur Auflösung bringen. Durch Versuche wurden diese Voraussetzungen vollständig bestätigt.

Es ist nicht schwer, solche Bedingungen zu schaffen; genügt es doch, 2 Bakterienarten, die die eben erwähnten Eigenschaften besitzen, in destilliertem Wasser zusammenzubringen. In solchem Milieu (wir

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

prüften eine große Reihe von Bakterien) kann man die grampositiven proteolytischen Bakterien dazu zwingen, die grampositiven peptolytischen Bakterien lebendig zu verdauen, wodurch sie zu erzwungenen Antagonisten werden. Selbstverständlich gelingt der Versuch nie, wenn das Milieu stickstoffhaltige Substanzen enthält, weil in diesem Falle die beiden Bakterien vortrefflich zusammen gedeihen.

Es wurden von uns folgende Bakterien (proteolytische) in „erzwungene Antagonisten verwandelt: B. mesentericus fuscus, B. subtilis, B. anthracis, eine ganze Reihe von Sarcinen, ein weißer, aus der Luft isolierter Kokkus und verschiedene Staphylokokkenarten. Als Bakterien, die zur Verdauung (lebendig) gebracht wurden, verwandten wir eine ganze Reihe von pathogenen Streptokokken, den B. bulgaricus, B. acidophilus (Moro II) und den Streptococcus lacticus.

Versuch Nr. 1. Eine 24 stünd. Ascites-Agarkultur wird nach 2maligem Abwaschen im destill. Wasser (um alle fremden, stickstoffhaltigen Substanzen zu entfernen) in einem Kolben, der 100 ccm destill. Wasser enthält, gebracht und dann eine Oese mit B. mesentericus fuscus zugefügt und der Kolben 24 Std. in den Brutschrank bei 37° C gestellt. Am nächsten Tage hat sich auf der Oberfläche des destill. Wassers ein Schleier gebildet, der aus Bazillen und Sporen von B. mesentericus besteht und vollständig denjenigen gleicht, die sich in gewöhnlicher Bouillon bilden. In der Tiefe des Kolben findet sich eine große Zahl von Bazillen und dazwischen Streptokokken, die haufenweise daliegen und fest an die Bazillen geschmiegt sind. Die meisten derselben sind nach Gram nicht mehr färbbar und nach 3-tägigem Verweilen im Brutschranke bei 37° C sind die Streptokokken nicht mehr nachweisbar. Zu bemerken ist noch, daß die Autolyse einer ganzen Kultur von Streptokokken im destill. Wasser bei 37° gewöhnlich nach 30—40 Tagen vor sich geht. Am 4. Tage der Kolben nur eine reine Kultur von B. mesentericus fuscus enthält. Bei öfterer Wiederholung dieses Versuches konnten wir feststellen, daß manchmal eine vollständige und rasche Verdauung der lebenden Streptokokken durch die frühzeitige Sporenbildung der Bazillen verhindert wird. Dieser Erscheinung kann man aber leicht vorbeugen, denn es genügt, zum destill. Wasser, in welchem sich die beiden Bakterien befinden, 3—5 Tropfen einer 1-proz. Peptonlösung, oder noch besser, die gleiche Quantität Bouillon hinzufügen. Die Sporenbildung hört dann sofort auf und es tritt eine rasche Vermehrung des B. mesentericus ein und vollständiges Verschwinden der Streptokokken. Setzt man wiederholt Pepton und Bouillon hinzu, so geht die Verdauung der Streptokokken in noch rascherem Tempo vor sich. Die winzige Quantität der hinzugefügten Bouillon oder des Peptons wirkt anspornend auf den B. mesentericus, ist aber ungenügend, um den Widerstand des Streptokokken zu begünstigen. (Bei Gegenwart von stickstoffhaltigen Substanzen gedeihen aber die beiden Bakterien friedlich zusammen.)

Eine ganze Reihe von Versuchen hat uns überzeugt, daß der Bouillon eine starke stimulierende Wirkung bei der Verdauung lebender Bakterien zukommt.

Die Beobachtung von Gaucher und Faure-Geors[1]), daß B. subtilis, der aus Bouillon in Milch geimpft wird, letzten rascher zur Gerinnung bringt, als wenn er vom Agar stammt, ist vielleicht auch damit zu erklären, daß die extraktiven Substanzen der Bouillon, die mit den Bakterien in die Milch gelangen, die rasche Vermehrung der Bazillen fördern.

Den Mechanismus der Verdauung der lebenden Streptokokken durch den Bacillus mesentericus stellen wir uns so vor, daß letzterer in das Milieu, in welchem die Verdauung stattfindet, eine bestimmte Quantität bakteriolytischer Substanz ausscheidet welche bei Berührung mit dem Streptococcus denselben zur Auflösung bringt. Die Quantität der ausgeschiedenen Substanz muß der Quantität der im Milieu vorhandenen Streptokokken entsprechen und möglicherweise muß sogar ein Ueberschuß dieser Substanzen ausgeschieden werden. Diese bakteriolytische Substanz müßte dann nach der Befreiung der Flüssigkeit von den Bakterien nachgewiesen werden können, wie dies uns in der Tat gelungen ist.

Versuch No. 2. Eine 24-stünd. Streptokokkenkultur wird in 100 ccm destill. Wassers aufgeschwemmt und die Aufschwemmung mit B. mesentericus (einige

1) Compt. rend. Soc. Biol. Paris. T. 23. 1914.

Generated on 2019-09-15 11:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Oesen) geimpft. Nach 4-stünd. Verweilen im Brutschrank war die ganze Streptokokkenkultur verdaut, worauf das Milieu von Bakterien durch längeres Zentrifugieren frei gemacht wurde und wir eine durchsichtige, gelbliche Flüssigkeit erhielten, die auf Anwesenheit bakteriolytischer Fermente geprüft wurde. In diese Flüssigkeit, brachten wir $^1/_{50}$ einer 24stünd. Streptokokkenkultur und ließen im Brutschrank $^1/_2$ Std. stehen, worauf wir die Veränderungen, die die Streptokokken erlitten hatten, untersuchten: Der größte Teil derselben Streptokokken färbte sich nicht mehr nach Gram; die Kokken waren meistens nicht mehr kettenförmig, sondern in Haufen gelagert und zusammengeballt. Einige von ihnen waren in winzige Körnchen zerfallen, andere aber dermaßen gequollen, daß sie 3mal so groß wie die normalen Kokken waren.

Je länger die Streptokokken in Berührung mit der bakteriolytischen Substanz waren, desto größer war der Auflösungsgrad derselben (s. untenstehende Tabelle, nach welcher die Wirkung der bakteriolytischen Substanz auf Grund wiederholter Zählungen nach der üblichen Methode, auf Petri-Schalen mit Ascitesagar, zusammengestellt worden ist.)

Dauer der Berührung der Streptokokken mit der bakteriolytischen Substanz	Zahl der Streptokokkenkolonien in 10 Oesen
0 St.	478
$^1/_2$ „	176
1 „	112
2 „	78
3 „	54
4 „	24

Es handelt sich dabei um Mittelzahlen, die aus 52 Versuchen zusammengestellt sind. Eine längere Berührung der Streptokokken mit der bakteriolytischen Substanz wurde aus folgenden Gründen vermieden: Das Abzentrifugieren des Milieus mit den darin enthaltenen Bazillen führte selten zur vollständigen Entfernung aller Bakterien; immer blieben noch einzelne Sporen oder Bazillen, die mikroskopisch nicht nachweisbar waren, jedoch beim längeren Verbleiben im Brutschrank aufkeimten und sich sehr rasch vermehrten. Nach 24-stünd. Verbleiben bei 37 ^{0} C war die Zahl der Bakterien so verschwindend klein (im ganzen Präparate 1 oder 2 Bakterien), daß die Bakteriolyse der Streptokokken nicht auf eine Verdauung durch die Bakterien zurückgeführt werden kann. Nach 4 Std. geht die Vermehrung der Bazillen rasch vor sich und die Verdauung der Streptokokken erfolgt durch die von diesen Bazillen ausgeschiedene bakteriolytische Substanz. Nur in vereinzelten Fällen, wenn es uns gelang, nach langem Zentrifugieren die Bakterien vollständig zu entfernen, verblieb der Streptokokkus in der verdauenden Flüssigkeit 6 Std., worauf wir beim Ueberimpfen auf Ascitesagar keine Streptokokkenkolonien mehr bekommen konnten. Von Interesse ist noch, daß die Fermente, die im Laufe eines proteolytischen Prozesses in der Gelatine oder in der Milch vom B. mesentericus gebildet werden, die lebenden Streptokokken weder auflösen, noch sonst irgendwie schädigen. Die beiden Bakterien gedeihen vortrefflich in diesem Nährboden zusammen.

Beim Evaporieren der bakteriolytisch wirkenden Flüssigkeit im Brutschrank erhielten wir eine bräunlichgelbe Masse, welche alle ihre bakteriolytischen Eigenschaften beibehielt.

Bei Prüfung einer 6 Monate alten, ausgetrokneten bakteriolytischen Substanz auf ihre Fähigkeit, die Streptokokken aufzulösen, ergab sich, daß diese nach dieser Zeit nicht vermindert worden war.

Die vom B. mesentericus ausgeschiedene bakteriolytische Substanz ist thermolabil und wird beim Erhitzen auf 56 ^{0}—57 ^{0} C ($^3/_4$ Std.) zerstört.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Interessant ist ferner, daß diese ausgetrocknete, pulverisierte Substanz (auch unevaporiert), wenn sie in Bouillon mit Ascites oder in Blutserum von Menschen gebracht wird, ihre bakteriziden und bakteriologischen Eigenschaften den Streptokokken gegenüber behält. Dabei beobachteten wir noch, daß die nach vielen Stunden (s. S. 70) aufkeimenden Mesentericus-Sporen nicht zur Bildung von gewöhnlichen Stäbchen führten, sondern zu langen, gewundenen Fäden wachsen.

Versuch Nr. 2 beweist, daß die bakteriolytische Substanz die vom erzwungenen Antagonisten ausgeschieden wird, die Streptokokken, wenn sie eine bestimmte Zeit auf sie eingewirkt hat, auflöst. Es schien uns nun von Wichtigßeit, festzustellen: 1) ob diese bakteriolytische Substanz nur auf die in Frage kommenden Streptokokken einwirkt, oder auch Streptokokken anderer Herkunft und andere Bakterienarten auflöst, 2) ob die Zerfallsprodukte der Streptokokken keine toxische Wirkung auf den tierischen Organismus ausüben, und 3) ob es nicht möglich ist, die Streptokokken durch Sensibilisieren mit der bakteriolytischen Substanz das betreffende Tier unschädlich zu machen.

Was die 1. Frage anbetrifft, so konnten wir nachweisen, daß die bakteriolytische Substanz alle Streptokokken, und zwar sowohl die pathogenen wie auch die nicht pathogenen auflöst. Auch der Pneumococcus wird leicht aufgelöst, dagegen Staphylokokken und Bazillen (eine ganze Reihe von grampositiven Stäbchen) nicht beeinträchtigt werden.

Zur Lösung der 2. Frage (ob die Zerfallprodukte des Streptokokken nicht toxisch für den tierischen Organismus seien), haben wir einer weißen Maus die evaporierte (und später in destill. Wasser aufgelöste) bakteriolytische Substanz unter die Haut eingespritzt; sie blieb während wochenlanger Beobachtungszeit vollständig munter.

Was schließlich die 3. Frage (ob es nicht möglich wäre den Streptococcus zu sensibilisieren) anbetrifft, so können wir folgendes berichten: $^1/_{1000}$ einer 24-stünd. Streptokokken-Agarkultur [1]) wurde in 2 ccm unserer bakteriolytischen Substanz aufgeschwemmt. Letztere wurde in der Weise gewonnen, daß, nachdem 2 Streptokokkenkulturen im destill. Wasser durch den B. mesentericus vollständig verdaut worden waren, die Flüssigkeit von Bakterien befreit und später evaporiert wird, danach der trockene Ueberrest in 2 ccm destill. Wassers aufgelöst wurde. Die Streptokokken blieben $^3/_4$ Std. in Berührung mit der bakteriolytischen Substanz. Wurden jetzt die Streptokokken zusammen mit der bakteriolytischen Substanz einer weißen Maus unter die Haut eingespritzt, so blieb sie während der ganzen Beobachtungszeit vollständig gesund und munter (mehrere Wochen). Dagegen ging die Kontrollmaus, die dieselbe Quantität von Streptokokken (in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt) bekommen hatte, nach 48 Std. ein.

Zusammenfassung der Resultate.

1) Im Gegensatz zu den natürlichen Antagonisten zeigen die erzwungenen Antagonisten (die grampositiven) ihre Eigenschaften nur unter den von der Versuchsperson gewählten Bedingungen. — 2) Für alle von uns untersuchten Bakterienarten ist es möglich, solche Be-

1) $^1/_{1000}$ einer 24-stünd. Agarkultur unseres Streptokokken tötet die Maus in 48 Std.

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

dingungen zu schaffen, daß sie zu erzwungenen Antagonisten der gewöhnlichen pathogenen Bakterien werden. — 3) Der Bacillus mesentericus (eine grampositive, proteolytische Bakterie), falls er sich gemeinschaftlich mit dem Streptococcus (einer grampositiven, peptolytischen Bakterie) in einem jeder Nahrung entbehrenden Milieu befindet, wird zum Antagonisten des letzteren und scheidet eine bakteriolytische Substanz aus. — 4) Die Verdauung der lebenden Bakterien durch die erzwungenen Antagonisten geschieht in derselben Weise, wie die Verdauung durch Bakterien der unlöslichen Eiweißsubstanzen, d. h. durch Ausscheidung einer proteolytischen Substanz. — 5) Die Quantität dieser ausgeschiedenen Substanz entspricht der Zahl, der sich im Milieu befindlichen Bakterien. Diese bakteriolytische Substanz wirkt auch außerhalb der Bakterien (nach Abzentrifugieren). — 6) Die bakteriolytische Substanz verliert beim Evaporieren und Austrocknen nichts von ihrer auflösenden Kraft. — 7) Die bakteriolytische Substanz ist nicht streng spezifisch. — 8) Streptokokken, die eine 3/4 Std. in Berührung mit der bakteriolytischen Substanz waren und die später unter die Haut einer weißen Maus (letale Dose) eingespritzt wurden, verursachten dem Tiere keinen Schaden.

Nachdruck verboten.

Ueber die Brauchbarkeit der Flockungsreaktion für die Auswertung antitoxischer Sera (insbesondere des Diphtherieantitoxins).

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie „Emil von Behring“ (Direktor: Prof. Dold).]

Von **W. Scholz.**

Zum sicheren Nachweis der Toxine und Antitoxine bedurften wir bis vor kurzem stets des Tierversuchs (einige wenige „Reagenzglasgifte“ ausgenommen). W. Georgi (1), der sich in eingehenden Untersuchungen mit dem Problem beschäftigt hat, die Wirkung der antitoxischen Heilsera direkt im Reagenzglase zur Darstellung zu bringen, sagt wohl mit Recht, daß die Weichhardtsche Epiphaninreaktion, die von Armand-Delille beobachtete positive Komplementbindung sowie Agglutinationsversuche mit antitoxischen Seren (Bruno, Lubowski, Schürmann und Sonntag u. a.) einen einigermaßen regelmäßigen Nachweis einer spezifischen Antikörperwirkung bei den antitoxischen Heilseris bisher nicht gestatteten. Dagegen bedeuten W. Georgis eigene Versuche, durch Zusatz cholesterinierter Organextrakte zu einer bestimmten Toxin-Antitoxinmenge, die Antikörperfunktion des Diphtherieserums als Flockung im Reagenzglase sichtbar zu machen, einen sehr beachtenswerten Fortschritt. Wie nahe W. Georgi dem durch neuere Forscher erreichten Ziele eines sicheren Nachweises antitoxischen Diphtherieserums sowie einer praktisch brauchbaren Auswertung desselben

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

in vitro war, wird jeder erkennen, der die Angaben Georgis mit den hier folgenden Zahlen vergleicht. Daß tatsächlich bei der Mischung von Diphtherietoxin mit Antitoxin im Reagenzglase eine sichtbare Präzipitation auftritt, wenn man nur die optimalen Mengen von Toxin und Antitoxin zusammenbringt, und daß diese Flockungsreaktion auch zur Auswertung des Serums oder Toxins geeignet sein kann, hat G. Ramon (2) gezeigt, und diese Angaben sind von Nicolle, Césari und Debains (3) zum Teil mit modifizierter Technik bestätigt worden.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Dold habe ich eine Nachprüfung der Ramonschen Angaben und eine Untersuchung über die praktische Brauchbarkeit der Methode an dem reichhaltigen Material der Behring-Werke vorgenommen.

In einer Reihe orientierender Vorversuche, die zum Teil nach der ursprünglichen Ramonschen Methode, zum Teil nach den Angaben von Nicolle, César und Debains ausgeführt wurden, zeigte sich zunächst die wichtige Tatsache, daß die auftretende Reaktion (oft nur eine starke Trübung, keine Flockung) mit großer Sicherheit als spezifisch angesehen werden kann, d. h. daß Diphtherietoxin nur mit Seren von mit Diphtherie behandelten Pferden reagierte, nicht dagegen mit Normalserum, Tetanus-Streptokokken- oder Dysenterieserum. Da Ramon seine Untersuchungen auch auf Tetanus ausgedehnt hat, wurden auch von mir Vorversuche mit Tetanustoxinen und Antiseren angestellt, die im Prinzip dasselbe ergaben wie bei Diphtherie, doch habe ich meine weiteren Untersuchungen der besseren Erschöpfung dieses Themas wegen zunächst auf Diphtherietoxin und Antitoxin beschränkt.

Was die beiden verschiedenen Methoden der Sichtbarmachung der Reaktion anbetrifft (Ramon: durch die Flockung, Nicolle, Césari und Debains: durch die Bildung eines Präzipitationsringes im Serum beim Ueberschichten von Serum über eine erstarrte Gelatine-Toxinlösung), so lieferte die einfachere Ramonsche Methode bessere Resultate, da bei der 2. Methode Schwierigkeiten in der Sterilhaltung der Gelatine-Toxinlösung sich ergaben. Da auch sonst kein Vorteil in dieser Methode erblickt werden konnte, wurde des Weiteren nur mit direkten Toxin-Antitoxinmischungen gearbeitet.

Bei einer näheren Betrachtung der Ramonschen Versuchstechnik ergab sich, daß die spärlichen Angaben Ramons einer Erweiterung und Präzisierung bedurften, um ein praktisch brauchbares Verfahren zu bekommen. Nach Ramon nehme man eine Reihe von Röhrchen mit je 20 ccm (die 100-fache Menge, die W. Georgi zu seinen Versuchen verwandte!) eines beliebigen Diphtherietoxins und setze Serum in fallenden Mengen zu. Bei Zimmertemperatur oder besser bei 37° C soll, wenn es sich um Diphtherieantitoxin handelt, nach kürzerer oder längerer Zeit (einige Minuten bis mehrere Stunden) Trübung und Flockung auftreten. Wichtig sei es, dasjenige Röhrchen zu bestimmen, in dem die Flockung zuerst auftritt (precipité indicateur), denn die Serummenge, bei deren Zusatz sich die 1. Flockung zeige, stehe in Beziehung zum Antitoxintiter des untersuchten Serums. Den fallenden Serummengen

von 4	ccm	entsprechen	50	Antitoxineinheiten
„ 2	„	„	100	„
„ 1	„	„	200	„
„ 0,5	„	„	400	„
„ 0,25	„	„	800	„

Die zwischen diesen Zahlen liegenden Werte ergeben sich von selbst.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es wurden von mir 10 Diphtheriesera verschiedener Wertigkeit nach dieser Vorschrift geprüft. Dabei zeigte sich bald, daß zwar mit jedem „beliebigen“ Diphtherietoxin (Bouillonfiltrat mit 0,5-proz. Karbolzusatz und einem Giftwert von mehr als 1 Gifteinheit in 1 ccm) positive Flockungsreaktionen zu erzielen waren, daß aber die „Indikationsflockung“ bei Anwendung eines stärker toxischen „Test“giftes bei demselben Serum relativ weniger Antitoxineinheiten anzeigte, als bei schwächerem „Test“toxin. Als Beispiel hierfür möge folgender Versuch gelten:

Zur Prüfung gelangt das Serum von Pferd Nr. 1139, dessen Auswertung im Tierversuch 600 AE in 1 ccm ergeben hatten. Als Testgift dient

1) D. G. Nr. 318 (in 1 ccm = ca. 4 Gifteinheiten)
2) D. G. Nr. 319 (in 1 ccm = ca. 6 Gifteinheiten)

5. Juni 1923 3^{30} p. m.

D. G. 318	20 ccm	20 ccm	20 ccm	20 ccm	20 ccm
fallende Serummengen Pfd. 1139	0,5 ccm	0,43 ccm	0,37 ccm	0,31 ccm	0,25 ccm
entsprechend	400 AE	500 AE	600 AE	700 AE	800 AE
4^{00} p. m.	—	—	Trübung?	Trübung	—
5^{00} p. m.	—	—	Trübung	Trübung!	Trübung?
6^{15} p. m.	—	Trübung	Trübung	flockt	Trübung!

D. G. 319	20 ccm	20 ccm	20 ccm	20 ccm	20 ccm
fallende Serummengen Pfd. 1139	0,5 ccm	0,43 ccm	0,37 ccm	0,31 ccm	0,25 ccm
entsprechend	400 AE	500 AE	600 AE	700 AE	800 AE
4^{00} p. m.	Trübung	Trübung?	—	—	—
5^{00} p. m.	Trübung!	Trübung	Trübung?	—	—
6^{25} p. m.	flockt	Trübung	Trübung	?	—

Dieses Ergebnis spricht für ein Auftreten der Flockung bei einer bestimmten Absättigung des Toxins und für eine Verwertbarkeit der Methode zur Antitoxinmessung, allerdings unter der Voraussetzung, daß man dasselbe Testtoxin beibehält.

Ich habe daraufhin 4 verschiedene Toxine (Di.-Gift Behring-Werke Nr. 312 = ca. 2-fach; Di.-Gift Nr. 318 = ca. 4-fach; Di.-Gift 319 = ca. 6-fach und Di.-Gift 326 konzentr. = ca. 30-fach) untersucht und aus mehreren Gründen Di.-Gift Nr. 319 für alle folgenden Versuche gewissermaßen als Testgift ausgewählt. (Diphtheriegift Nr. 319 ist ein sehr hellgelbes, klares Bouillonfiltrat mit 0,5-proz. Karbolzusatz, das vor jetzt ca. 6 Mon. gewonnen und bei intrakutaner Prüfung am Meerschweinchen als 6-fach normal gefunden wurde. Das Präparat wird jetzt von den Behring-Werken für die Titrierung der Diphtheriesera in vitro aufbewahrt.) Ein solches „Test“gift hat gegenüber den bisherigen den Vorteil, daß das Flockungsvermögen (pouvoir floculant) nach Ramons neuesten Untersuchungen (4) viel konstanter, ja fast unveränderlich ist, gegenüber dem bekanntlich stets schwindenden direkten und indirekten Giftwert alternder Bouillongifte.

Für den Fall, daß die Flockungsmethode ernstlich als brauchbares Austitrierungsverfahren in Frage kommen sollte, entstand nun die praktisch nicht gleichgültige Frage, ob die von Ramon gerühmte bedeu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tende Verbilligung der Antitoxinaustitrierungen nach der Flockungsmethode infolge Ersparnis von Versuchstieren (die Vereinfachung der Technik und der schnelle Erhalt des Resultates sei als Vorteil gern zugegeben) für die heutigen Verhältnisse in Deutschland zutrifft. Wenn man bedenkt, daß man für eine einzige Serumprüfung 100 ccm eines hochwertigen Toxins verbraucht, während man nach der Römerschen Intrakutanmethode 6 Prüfungen an einem Meerschweinchen ausführen kann, so wird es klar, daß der Kostenunterschied bei Anwendung des ursprünglichen Ramonschen Verfahrens kein allzugroßer sein dürfte. Ich habe deshalb, obwohl Ramon angibt, daß bei geringerer Toxinmenge die Resultate an Zuverlässigkeit verlieren, versucht, mit dem 10. Teil der vorgeschriebenen Menge, also mit 2,0 ccm (in je einem ca. 5 ccm fassenden Präzipitationsröhrchen!) auszukommen. Aus mehr als 50 vorgenommenen Vergleichsuntersuchungen ergab sich dann auch, daß bei entsprechenden Serumverdünnungen, bei Verwendung von 2 ccm unseres Toxins Nr. 319 eine Genauigkeit erreicht werden konnte, die den Resultaten der Ramonschen Methode gleichkommt.

Was nun die fallenden Serummengen anbetrifft, die nach Ramons Angaben zu den einzelnen Giftröhrchen zuzusetzen sind, so vermisse ich die Angabe eines einheitlichen Volumens, in das diese Serummengen gebracht werden sollen. Es schien mir möglicherweise eine Fehlerquelle darin zu liegen, verschiedene Volumina (beispielsweise Volumina von 4,0 ccm und 0,25 ccm) zu je 20 ccm Toxin zuzusetzen. Diese Fehlerquelle könnte sich besonders stark bemerkbar machen, wenn man auf Zwischenwerte prüfen will, z. B. auf 450 oder gar auf 475 AE. Aus diesem Grunde habe ich durch Zugabe von 0,85-proz. Kochsalzlösung als Verdünnungsflüssigkeit in meinen Versuchen das Volumen des zuzusetzenden Serums stets einheitlich (und zwar = 0,5 ccm) gemacht.

Bei einer größeren Reihe von Versuchen mit diesen Quantitäten fand ich dann, daß die Prüfungsmenge von 2,0 ccm unseres Toxins Nr. 319 eine Indikationsflockung mit der Serummenge von etwa 0,23 ccm (Ramon rechnet 2,0 ccm auf 20 ccm seines „beliebigen" Toxins) bei einem 100-fachen, und dementsprechend mit einer Menge von 0,058 ccm (0,5 ccm nach Ramon) bei einem 400-fachen Serum lieferte. Da wir für die Flockungsenergie (pouvoir floculant) des Diphtherietoxins noch keine Maßzahlen besitzen [nach Ramon (4) besteht nur während der ersten 8 Tage des kulturellen Wachstums ein Parallelismus zwischen Flockungsenergie und direktem Giftwert], so läßt sich heute ein allgemein gültiges, für die Flockung optimales Verhältnis von $\frac{\text{Toxin}}{\text{Antitoxin}}$ noch nicht genau angeben. Ein Annäherungswert ist in meinem empirisch erhaltenen Flockungsoptimum von

$$\frac{\text{ca. 12 G.E.}\left(\substack{\text{2 ccm D.G. 319}\\ \text{ca. 6-fach}}\right)}{\text{23,3 AE}\left(\substack{\text{0,0582 ccm D.H.S}\\ \text{400-fach}}\right)} \text{ gegeben.}$$

Unter Berücksichtigung dieser Zahlenwerte habe ich mir für meine Serumverdünnungen folgendes Schema (S. 76) ausgearbeitet:

Die folgenden Mengen sind so berechnet, daß daraus weitere Verdünnungen für die Zwischenwerte (z. B. für 250-fach) durch Mischung von je 1 ccm des vorhergehenden Fläschchens (200-fach) mit 1 ccm des folgenden (300-fach) hergestellt werden können. Zu noch engerer Ein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fläschchen I	= 2,61 ccm[1]) Serum		+ 3,0 ccm NaCl		100-fach
„ II	= 2,0	„ von Fl. I	+ 2,0	„ „	200 „
„ III	= 1,0	„ „ „ I	+ 2,0	„ „	300 „
„ IV	= 2,0	„ „ „ II	+ 2,0	„ „	400 „
„ V	= 1,0	„ „ „ I	+ 4,0	„ „	500 „
„ VI	= 2,0	„ „ „ III	+ 2,0	„ „	600 „
„ VII	= 1,0	„ „ „ I	+ 6,0	„ „	700 „
„ VIII	= 2,0	„ „ „ IV	+ 2,0	„ „	800 „

grenzung, z. B. für 275-fach, wird 0,5 ccm Fl. 250-fach mit 0,5 ccm Fl. III gemischt.

Nach diesem Schema lassen sich alle praktisch wichtigen Verdünnungen leicht herstellen; die Prüfungsmengen für unter 100-fache sowie über 800-fache Sera kann man durch Berechnung nach den obigen Angaben unschwer finden. Hat man gar keinen Anhaltspunkt für den Antitoxingehalt eines zu prüfenden Serums, so wird man zunächst auf die obigen Grundwerte prüfen und man kann dann nach dem Ausfall dieser Prüfung die Grenzen beispielsweise so ziehen, daß man ein vermutlich 400 faches Serum auf die Werte 350, 375, 400, 425 und 450-fach prüft.

Ich gebe als Beispiel hier den Prüfungsverlauf von einem 500-fachen Diphtherieserum der Behringwerke mit 0,5 Proz. Karbolgehalt (Ballon 285, Probe vom 14. Juni 1923), das im Institut f. exp. Therapie in Frankfurt a. M. staatlich anerkannt wurde:

1) werden die zur Herstellung der Serumverdünnungen dienende Fläschchen (bzw. gewöhnliche Reagenzröhrchen, ca. 10 ccm fassend) mit 0,85-proz. Kochsalzlösung und den entsprechenden Serummengen in folgender Weise beschickt:

Fl. I	= 2,61	ccm Serum	+ 3,0	ccm NaCl	100-fach
„ II	= 2,0	„ Fl. I	+ 2,0	„ „	200 „
„ III	= 1,0	„ „ I	+ 2,0	„ „	300 „
„ IV	= 2	„ „ II	+ 2,0	„ „	400 „
„ 450	= 1	„ „ IV	+ 1,0	„ von Fl. V	450 „
„ 475	= 0,5	„ „ 450	+ 0,5	„ von Fl. V	475 „
„ V	= 1	„ „ I	+ 4	„ NaCl	500 „
„ 525	= 0.5	„ „ V	+ 0,5	„ von Fl. 550	525 „
„ 550	= 1	„ „ V	+ 1	„ von Fl. VI	550 „
„ VI	= 2	„ „ III	+ 2	„ NaCl	600 „

(Die Menge von 2,61 ccm der klaren Serumprobe wird mit einer 1 ccm-Pipette in Fläschchen I eingefüllt und nach gutem Durchmischen die weiteren Fläschchen (mit derselben Pipette) mit den angegebenen Serumverdünnungen versehen);

2) werden in 5 Präzipitationsröhrchen (ca. 5 ccm fassend) je 2 ccm Di-Gift 319 gegeben;

3) werden aus den Fläschchen 450, 475, V, 525 und 550 je 0,5 ccm der betreffenden Verdünnung in eins der mit Gift beschickten Röhrchen gefüllt. Die Röhrchen werden gut umgeschüttelt und in einen Brutschrank von 37 ° gebracht.

Nach 20 Min. sind bereits alle Röhrchen getrübt und nach $4^1/_2$ Std. beginnt, wie das Protokoll zeigt, das mittlere Röhrchen (500-fach) zu flocken:

1) Diese Zahl ist, wie aus dem Obigen bereits hervorgeht, empirisch gefunden worden. Sie erfüllt die Bedingung, in 0,5 ccm der Verdünnung in Fläschchen I 0,23 ccm Serum (vgl. oben) zu enthalten.

[In 5,61 ccm Verdünnung 2,61 ccm Serum

„ 0,5 „ „ $\frac{2,61 \times 0,5}{5,61} = 0,23$ ccm Serum]

Ferner genügt sie der praktischen Notwendigkeit, mindestens 5 ccm in Fl. I zur Verfügung zu haben.

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

4. Juli 1923. 10^{00} a. m.

Ballon 285 (500-fach) Probe vom 14. Juni Dosis 2,61 ccm	450	475	500	525	550
10^{20} a.m.	+	+ !	+ ! !	+ !	+
2^{30} p.m.	+ !	+ ! !	flockt	+ ! !	+ !
2^{50} p.m.	+ ! !	geflockt	geflockt	geflockt	+ ! !

Erst nachdem eine solche Präzisierung durch eine große Zahl von Vorversuchen einmal erreicht war, konnte eine systematische Vergleichung der Ergebnisse des Flockungsverfahrens mit denen des Tierversuchs angestellt werden. Von nun an wurden sämtliche Serumproben, die zur laufenden Kontrolle bei der Serumgewinnung in den Behringwerken im Tierversuch ausgewertet wurden, im Flockungsversuch von mir nachgeprüft. In mehr als 50 vergleichenden Proben wurde dabei nicht nur nie eine Differenz von mehr als 10 Proz. gefunden, sondern die Werte der weitaus meisten Sera konnten als praktisch übereinstimmend bezeichnet werden.

Was die praktische Verwertbarkeit der Methode, ausgenommen die Genauigkeit der erhaltenen Resultate im Vergleich zu denen des Tierversuchs anbetrifft (es ist ja wohl a priori eine offene Frage, ob der Tierversuch oder die Flockungsprobe das sichere Titrationsverfahren ist) so habe ich im Laufe meiner Untersuchungen noch einige Beobachtungen gemacht, die ich kurz mitteilen will, ohne auf ihre Erklärungsmöglichkeiten hier eingehen zu können. So zeigte sich z. B., daß frische Sera bei der gleichen Methodik (37° im Brutschrank) in kürzerer Zeit (1—3 Std.) Flockung erzeugten als ältere. Ein 2 Mon. altes Serum flockte beispielsweise erst nach 16 Stunden. Vielleicht zeigen sich ähnliche Unterschiede beim Vergleich von frischem und altem Toxin.

Ob auch der Zusatz von 0,5-proz. Karbolsäure, den eine Anzahl der untersuchten Sera aufwiesen, einen Einfluß auf den zeitlichen Eintritt der Flockung hatte, darauf habe ich nicht besonders geachtet. Daß Karbolsäurezusatz die Reaktion als solche nicht beeinträchtigt, haben wiederholte Versuche gezeigt. Praktisch wichtig ist es natürlich auch, den Zeitpunkt, zu dem die Flockung auftritt, ungefähr zu kennen, um nicht gerade die erste Flockung zu übersehen. (Kontrolle von 5 zu 5 Min. ist zur Zeit der vermutlichen 1. Flockung erforderlich). Wie schon erwähnt, gaben bei meinem Toxin 319 einige Tage alte Sera nach 1—4 Std., ältere nach 4—20 Std. die ersten Flockungen.

Wenn man nun, unter Berücksichtigung aller oben erwähnten Untersuchungsergebnisse ein Urteil über die Verwendbarkeit der Flockungsreaktion für die Auswertung des Diphtherieantitoxins abgeben will, so kann man einmal sagen, daß eine solche Auswertung durchaus möglich ist. Von Renaux (5), der bereits über eine Nachprüfung der Methode berichtet hat, werden Differenzen von 3—4 Proz. gegenüber den Resultaten des Tierversuchs angegeben, was mit den hier gewonnenen Resultaten gut übereinstimmt, und S. Schmidt (6) berichtet ebenfalls über gute Bewährung der Methode in bezug auf die Genauigkeit der Resultate. Ueberdies möchte ich aber bei Anwendung der oben beschriebenen Technik der Flockungsreaktion auch einen erheblichen praktischen Wert für die laufende Kontrolle bei der fabrikmäßigen Serumgewinnung, zusprechen. So wurde wiederholt beobachtet, daß das Prüfungsergebnis der Flockungsmethode, das gegenüber dem Tierversuch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

höhere Werte ergeben hatte, bei einer Wiederholung des Tierversuchs sich als richtig erwies. Infolge der Einschränkung des Toxinverbrauchs auf den 10. Teil der ursprünglichen Menge dürfte auch die Frage, ob der Tierversuch oder die Flockungsmethode das billigere Verfahren darstellt, zugunsten der Flockungsmethode gelöst sein.

Ganz abgesehen von dieser praktischen Seite der Sache ist die Bestätigung eines lange vermuteten Phänomens durch das Experiment als wissenschaftlicher Erfolg zu buchen. Das Auftreten einer Flockung bei der Einwirkung von Toxin auf Antitoxin gestattet uns, nun auch diese Reaktion, wie viele andere Antigen-Antikörperwirkungen, als kolloidchemischen Vorgang aufzufassen. Das bedeutet sicherlich einen Schritt vorwärts in der Erkenntnis biologischen Geschehens, einen Wegstein zur unitarischen Auffassung der Antigen-Antikörperreaktionen.

Zusammenfassung.

1) Die von Ramon angegebene Flockungsmethode zur Auswertung von Diphtherie-Antitoxin liefert Ergebnisse, die mit denen des Tierversuchs ziemlich gut übereinstimmen, allerdings nur unter der Voraussetzung, daß man nicht mit einem „beliebigen" Toxin, sondern mit einem bestimmten „Test"-Toxin arbeitet.

2) Wegen des großen Toxinverbrauches bedeutet das Ramonsche Verfahren in seiner bisherigen Form keine wesentliche Verbilligung.

3) Man kann aber auch, trotz Ramons gegenteiliger Meinung, mit geringeren Toxinmengen auskommen (statt mit 20 ccm mit 2 ccm Toxin) Auf solche Weise gestaltet sich das Flockungsverfahren billiger als der Tierversuch.

4) Mit Hilfe einer abgeänderten Technik (Herstellung von Serumverdünnungen, Einschränkung der Menge des Prüfungstoxins auf 2 ccm, Verwendung eines bestimmten Toxins, nämlich D.G. 319 Behringwerke, dessen Flockungsoptimum bei entsprechender Mischung mit dem Prüfungsserum genau ermittelt wurde) wurden mehr als 50 vergleichende Prüfungen vorgenommen. Es ergab sich dabei gegenüber dem Tierversuch nie eine Differenz von mehr als 10 Proz.; bei weitaus den meisten Seren konnten beide Werte als praktisch übereinstimmend bezeichnet werden.

Literaturverzeichnis.

1) Georgi, W., Med. Klin. 1920. Nr. 41. — 2) Ramon, G., Compt. rend. Soc. Biol. 1922. p. 711. — 3) Nicolle, Césari et Debains, Ann. de l'Institut Pasteur. 1922. p. 596. — 4) Ramon, G., Compt. rend. Soc. Biol. 2. Juni 1923. — 5) Renaux, E., Ibid. 9. Juni 1923. — Schmidt, S., Ibid. Bd. 88. Nr. 2.

Nachdruck verboten.

Zur Färbung der Tuberkelbazillen nach Konrich.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Geheimrat Prof. H. Kossel).]

Von **K. Laubenheimer.**

An Stelle der zum Nachweis von Tuberkelbazillen meist angewandten Methode nach Ziehl-Neelsen empfahl Konrich (1) als Entfärbungs-

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

mittel eine 10-proz. Lösung von Natriumsulfit und Nachfärben mit gesättigtem wässerigen Malachitgrün 50 + 100 Wasser. Natriumsulfit reduziert das zur Färbung der Präparate benutzte Fuchsin zu der farblosen Leukobase (Prinzip des Endo-Nährbodens), läßt aber auch bei langer Einwirkung das Fuchsin, das einmal von den Tuberkelbazillen aufgenommen ist, unberührt. Die Bazillen erscheinen also nach der Entfärbung der Präparate mit Natriumsulfit leuchtend rot und heben sich von dem mit der Kontrastfarbe Malachitgrün gefärbten Umgebung gut ab. Schulte-Tigges (2) erhielt bei Gegenfärbung mit wässeriger konzentrierter Pikrinsäure noch bessere Kontraste.

Der Vorteil der Konrichschen Methode vor den Verfahren, die Alkohol als Entfärbungsmittel benutzen, besteht in einer wesentlichen Verbilligung, was für Untersuchungsstellen, die viele Präparate zu verarbeiten haben, heutzutage bei dem sehr hohen Preis des Alkohols von Bedeutung ist. Für Schnittpräparate eignet sich das Natriumsulfit zur Entfärbung besser als Mineralsäuren, da es die Gewebsstruktur nicht angreift.

Das Verfahren wird von den meisten Nachuntersuchern recht günstig beurteilt [Spreitzer (3), Bernblum (4), Bender (5), Mazza und Niño (6), de Mestral (7), Schloßberger (8), Geschke (9)]. Bernblum, Mazza u. Niño sowie Konrich (10) berichten sogar, daß sich nach Konrich mehr Tuberkelbazillen nachweisen lassen als nach Ziehl-Neelsen. Auch ich habe bei vergleichenden Untersuchungen gute Ergebnisse erhalten. Nach Schloßberger kann die Sulfitentfärbung auch zur Differenzierung von echten Warmblüter-Tuberkelbazillen und den übrigen säurefesten Bakterien einschließlich der Friedmannschen Schildkrötentuberkelbazillen benutzt werden, da diese ganze Gruppe spätestens nach $\frac{1}{2}$—2 Std. entfärbt wird, während die echten Tuberkelbazillen auch nach 24-stünd. Behandlung mit Sulfit die Farbe noch behalten. Soweit sich aus der Literatur ersehen läßt, stehen nur Gaté, Papacostas und Lacoste (11) sowie von Bergen (12) der Methode ablehnend gegenüber. Erstere Autoren finden den Farbton der Tuberkelbazillen in Präparaten nach Konrich unrein. Nach von Bergen dauert die Entfärbung zu lange. Gute Ergebnisse bekam auch dieser Autor, wenn er die Präparate zuerst mit Sulfitlösung behandelte und dann mit 60-proz. Alkohol weiter entfärbte. Durch das Einschieben von Alkohol geht aber gerade der Hauptvorteil der Konrichschen Methode wieder verloren. Für histologische Präparate hält auch von Bergen die Methode für sehr geeignet. Trotzdem erachtet er die Färbung nach Ziehl-Neelsen für besser, einzig und allein aber aus dem Grunde, weil das Natriumsulfit zu unbeständig und die Entfärbung damit zu unzuverlässig sei.

Diese geringe Haltbarkeit des Natriumsulfits und seiner Lösungen ist in der Tat ein schwerwiegender Nachteil des Konrichschen Verfahrens. Das Entfärbungsvermögen der Lösung läßt schon 2—3 Tage nach ihrer Herstellung merklich nach und erlischt nach weiteren wenigen Tagen ganz. Wenn die Bereitung einer frischen Lösung auch keine Schwierigkeiten macht, so ist doch diese Unbeständigkeit der Lösung der allgemeineren Einführung der Methode hinderlich. Vielleicht sind daher einige Winke nicht unwillkommen, wie das Reduktionsvermögen der Sulfitlösung verlängert werden kann.

Das im Handel befindliche Natriumsulfit ($Na_2SO_3 + 7\,H_2O$) ist von sehr unterschiedlicher Beschaffenheit und chemisch nicht rein. Häufig ist es mit kohlensauren Alkalien mehr oder weniger verunreinigt. Auch wenn das Salz als „neutral“ bezeichnet wird, reagiert es meist alkalisch.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In alkalischer Lösung verdirbt es aber besonders leicht. Man prüfe daher stets die Reaktion der Lösung und stelle sie, wenn nötig, mit einigen Tropfen Schwefelsäure auf den Lackmusneutralpunkt ein. Das kristallisierte Salz soll wasserhelle Kristalle darstellen, die keine Spur von Verwitterung zeigen dürfen. Ansehen kann man es dem Präparat aber nie, ob es brauchbar ist, oder ob die Oxydation zu Natriumsulfat ($Na_2SO_4 + 10 H_2O$) schon eingesetzt hat, oder wie weit diese vorgeschritten ist. Natriumsulfat besitzt aber keinerlei reduzierende Eigenschaften. Beim Einkauf wende man sich daher nur an zuverlässige Firmen, um ein möglichst reines Produkt zu bekommen. Auch dieses „reine" Natriumsulfit hat durchschnittlich nur 90 Proz. Reingehalt. Daß das Salz ebenso wie seine Lösungen nur in gut verschlossenen Gefäßen aufbewahrt werden darf, versteht sich nach dem Gesagten wohl von selbst. Außer dem kristallisierten Salz kommt noch ein wasserfreies Produkt in den Handel als Natriumsulfit siccum, das weit beständiger ist. Es ist doppelt so stark als das krystallisierte Sulfit, und man braucht daher nur die Hälfte des letzteren.

Ein weiterer Kunstgriff, die Lösung haltbarer zu machen, besteht darin, daß man eine ganz geringe Menge Hydrochinon (Entwicklersubstanz in der Photographie) hinzufügt, und zwar genügen 0,5 g Hydrochinon auf 1000 ccm Sulfitlösung, um eine wochenlange Haltbarkeit zu erzielen. Natürlich wird man durch guten Abschluß der Gefäße stets dafür sorgen, daß der Sauerstoff der Luft nicht unnötig Zutritt erhält.

Literatur.

1) Dtsch. med. Wochenschr. 1920. S. 741. — 2) Ebenda. 1920. S. 1225. — 3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 458. — 4) Ebenda. Orig. Bd. 87. 1921. S. 23. — 5) Ebende. Orig. Bd. 86. 1921. S. 561. — 6) La prensa méd. Argentina. 1921; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 72. 1921. S. 545. — 7) Schweiz. med. Wochenschr. 1921. S. 873. — 8) Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 50. 1922. — 9) Ztschr. f. Tuberkul. Bd. 36. 1922. S. 351. — 10) Dtsch. med. Wochenschr. 1923. S. 852. — 11) Compt. rend. Soc. de Biol. T. 84. 1921. p. 405; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 72. S. 544. — 12) a) Rev. méd. de la Suisse romand. T. 42. 1922. Nr. 7; Ref. Centralbl. f. d. ges. Hyg. Bd. 3. 1923. S. 42. — b) Centralbl. f. Bakt Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 598.

Inhalt.

Becker, Rudolf, Zur Nomenklatur der Pferdebandwürmer (Anoplocephalidae), S. 63.

Braun, H., u. **Löwenstein, P.,** Ueber den Bacillus inconstans. Zugleich ein Beitrag zur Bedeutung der Züchtungstemperatur für die Entwicklung der Geißeln und des antigenen Apparates, S. 1.

Bürgers u. **Herz, H.,** Ueber das Vorkommen der verschiedenen Pneumokokkentypen, S. 42.

Donges, Ueber Streptokokkenfunde und Streptokokkenzüchtung aus dem Blute von Masernkranken. Vorläufige Mitteilung. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 45.

Gildemeister, E., u. **Herzberg, Kurt,** Ueber das d'Herellesche Phänomen. III. Mitteilung, S. 12.

Gluchow, K., u. **Rosenbaum, Z.,** Ueber die Bakterien des Blutes beim Typhus exanthematicus, S. 29.

Hage, Erfolge mit Blutkulturen beim Typhus durch längere Bebrütung, S. 25.

Laubenheimer, K., Zur Färbung der Tuberkelbazillen nach Konrich, S. 78.

Mc Gowan, J. P., Bradsot or Braxy, S. 54.

Mutussis, Constantin, Eine Blastomyces-Art aus einer Hautaffektion, S. 51.

Radice, Leonardo, Beitrag zur Kenntnis der Wunddiphtherie, S. 20.

Schiller, Ignaz, Ueber „erzwungene" Antagonisten. I. Mitteilung, S. 68.

Scholz, W., Ueber die Brauchbarkeit der Flockungsreaktion für die Auswertung antitoxischer Sera (insbesondere des Diphtherieantitoxins), S. 72.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 91. Heft 2.

Ausgegeben am 31. Oktober 1923.

Nachdruck verboten.

Ueber einen Fall von Streptothrixpyämie.

[Aus dem I. Pathol.-anat. Institut der k. ungar. „Pázmány Peter“-Universität Budapest (Direktor: Prof. Koloman Buday).]

Von Dr. **Johann Batisweiler.**

Die Faden- und die Schimmelpilze bilden nach der Einteilung von Petruschky die Gruppe der Hyphomyceten; bei ersteren unterscheidet er die Streptothrix- und die Actinomyces-Arten. Eine andere Einteilung der Hyphomyceten gibt Verebély auf Grund der Feststellung, daß die Fadenpilze im Organismus unter gleichen Kulturformen die gleichen klinischen Bilder verursachen. Auf Grund dieses Verhaltens sind die Hyphomykosen in 4 Gruppen zu ordnen, je nachdem die Fadenpilze im Organismus in Form von Kolonien, Drusen, Fäden oder Zellen vorkommen. Zur 1. Gruppe gehören die Dermatomykosen, die Otomykosis, die Mucomykosis und die Pneumomykosis. Zur 2. Gruppe, den drusigen Hyphomykosen, gehören Aktinomykosis und das Mycetoma pedis. Die fädigen Hyphomykosen bilden die 3. und kleinste, am wenigsten bekannte Gruppe der Streptotrichosen, und zur 4. Gruppe, den zelligen Hyphomykosen, gehört die Sporotrichosis und die Blastomykosis.

Die Streptothrix-Arten kommen in der Natur in vielerlei Abarten ubiquitär vor: in der Luft, in unreinem Trinkwasser, in den Mauern feuchter Wohnungen, auf Blättern, Früchten etc. Trotz ihres überaus häufigen Vorkommens werden sie nur selten zu Krankheitserregern im menschlichen oder tierischen Organismus. Die Streptotricheen sind also fakultativ pathogene Keime und erfordern zu ihrer Festsetzung im Organismus besonders günstige Bedingungen. Die Veränderungen, welche sie verursachen, sind größtenteils unbedeutend und nur selten gefährlicher Natur.

Die Krankheitsbilder, die sich im Anschluß an eine solche Infektion entwickeln, sind meistens sehr schwer als Streptotrichosen zu diagnostizieren, da die klinischen Erscheinungen und die objektiv nachweisbaren Veränderungen meistens im Rahmen jener klinischen Bilder verlaufen, welche wir bei chronischen Infektionskrankheiten, besonders im Gefolge von Tuberkulose und anderer langwierigen Eiterungen zu sehen gewohnt sind. Bei schleppendem Verlaufe werden sie also leicht mit diesen verwechselt, bei stürmischem Verlaufe der Streptotrichosen lenkt eben der rasche Verlauf der Krankheit die Aufmerksamkeit des Klinikers in eine andere Richtung. Hierin liegt der Grund, daß die Klarstellung der auslösenden Ursache zumeist erst durch die bakteriologische Untersuchung des chirurgischen oder Sektionsmateriales erfolgt. So geschah es auch im vorliegenden Falle, da sich während der klinischen Beobachtung keinerlei Umstand ergab, welcher zu einer eingehenderen Analyse der Aetiologie der Pneumonie Anlaß gegeben hätte. Es bestanden nämlich außer dieser bei dem Kranken auch Tabes dorsalis, Aneurysma aortae und ein inkompensierter Herzfehler, welche die Schwere des Krankheitsbildes genügend zu erklären schienen. Um so überraschender war das Ergebnis der Sektion, der histologischen und der bakteriologischen Untersuchung, welche als den Erreger der tödlich verlaufenen Pneumonie und Pyämie einen bei uns in Ungarn noch nicht publizierten Fadenpilz nachwies.

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Aus der Krankengeschichte will ich folgendes kurz hervorheben:

Der 53-jähr. Kranke wurde am 2. Sept. 1921 auf die I. Med. Klinik (Direktor: Prof. Rudolf Bálint) aufgenommen. Mit 17 Jahren akquirierte er eine Lues, welche mit Schmierkuren behandelt wurde. Mit 25 Jahren litt er mehrere Monate hindurch an Gelenkrheumatismus. Mit 38 Jahren wurde sein linkes Auge wegen Glaukoms enukleiert. Mit 45 Jahren lag er wegen Nierenentzündung 3 Mon. zu Bette. Mit 49 Jahren trat Glaukom am rechten Auge auf, und trotz der Iridektomie erblindete er auch auf diesem Auge. Die vorliegende Krankheit begann vor 2 Mon. mit Anfällen von sehr großer Schwäche, seit 2 Wochen ist er besonders bei Bewegung sehr kurzatmig und nachts plagen ihn gehäufte dyspnoische Anfälle. Seit 5 Tagen entleert er bei täglich 4—5maliger Miktion kaum einige Kubikzentimeter Urin, und seit dieser Zeit sind beide Füße geschwollen.

Bei der objektiven Untersuchung findet sich Oedem an beiden unteren Gliedmaßen, am Scrotum, Penis und unter der Bauchhaut. Die Atmung ist dyspnoisch bei Zurückbleiben der rechten Brusthälfte; Herzdämpfung nach allen Richtungen erweitert, Herztöne dumpf, II. Aortenton akzentuiert. Puls 104. Ueber beiden Lungen tympanitischer Perkussionsschall, über beiden Unterlappen groß- und kleinblasige Rasselgeräusche. Im Abdomen Ascites; im Harn Eiweiß und Eiter in geringer Menge, im Zentrifugat Leukozyten, Erythrozyten, hyaline und körnige Zylinder. Wassermannsche Reaktion stark positiv. Patellarreflex auch mit dem Jendrassikschen Kunstgriff nicht auslösbar. Im Unterlappen der rechten Lunge zeigte die Röntgendurchleuchtung Infiltrationsherde, am Arcus aortae war ein Aneurysma nachweisbar. Der Blutdruck war anfangs 230/180 mm, in der 5. Woche sank er auf 167/100 mm, während der Carel-Kur und der antiluetischen Behandlung bekam der Kranke eine Pneumonie am rechten Oberlappen; die anfangs subfebrile Temperatur nahm septischen Charakter an; im Auswurf fanden sich keine Tuberkelbazillen. Während der Kräftezustand ständig abnahm und das Sensorium des Kranken getrübt war, traten 4 Tage vor dem Tode, welcher am 50. Tage des Aufenthaltes in der Klinik erfolgte, stecknadelkopfgroße Abszeßchen in der Haut auf. Klinische Diagnose: Tabes dorsalis. Myodegeneratio cordis. Pneumonia l. d.

Am 24. Okt. fand die Sektion statt. Aus dem Protokoll wäre folgendes hervorzuheben: Auf der Haut der Schenkel und Unterschenkel finden sich reichlich linsengroße Blutungen, in deren Mitte miliare, weißlich-gelbe Knötchen sitzen. Im Abdomen kein Ascites. Auf dem Ileum finden sich in Gruppen beisammenstehende, weißlichgraue Knötchen von Stecknadel- bis Hirsekorngröße, welche ohne entzündliche Reaktion in der Serosa sitzen. Die Pleurablätter der rechten Brusthälfte sind in ihrer ganzen Ausdehnung verwachsen. Das Herz ist in jeder Richtung vergrößert, wiegt 700 g. In der linken Kammer sitzt in der Nähe der Herzspitze ein weißlich-gelber, fibrinöser Thrombus, der in seinem Inneren eitrige Erweichung zeigt. An der Stelle, an welcher er der Wand des Ventrikels anhaftet, ist die sonst 2 cm dicke Muskulatur desselben auf 4—5 mm verdünnt. In beiden Herzhälften finden sich die erwähnten stecknadelkopfgroßen, gelblichen Knötchen, besonders in der rechten Herzkammer unter der Abgangsstelle der Art. pulmonalis, wo sie zu einem bohnengroßen Infiltrat konfluieren, von deren Schnittfläche eine dickeitrige Masse abziehbar ist. Sonst finden sich in der Herzmuskulatur zahlreiche Narben. Klappen ohne Abweichung. Aortenbogen mittelmäßig erweitert, mit unebener Intima, welche narbige Einziehungen und mit Thromben bedeckte atheromatöse Stellen zeigt. Die narbige Verdickung der Wand ist besonders am Arcus aortae ausgeprägt, die atheromatöse Einschmelzung im Bereich der Aorta abdominalis. Die Koronararterien eng, lassen hyaline Verdickungen erkennen.

Der Oberlappen der rechten Lunge kollabiert nicht, seine Pleura ist verdickt und schwartig. Auf der Mitte der Schnittfläche erscheint eine Kaverne von der Größe eines kleinen Apfels, deren zerrissene Wand von dem umgebenden Gewebe schwer abzugrenzen ist. Sie enthält dicken, sahnigen Eiter. Ebensolche erbsen- bis haselnußgroße Eiterherde finden sich in dem umgebenden Gewebe und hören, sich allmählich verkleinernd, an der Grenze der Pleura auf. Das übrig gebliebene Lungengewebe ist dicht infiltriert, luftleer. Der rechte Unterlappen ist kleiner als normal, luftleer, von der Konsistenz dichten Muskelgewebes. Die Schleimhaut des rechten großen Bronchus ist geschwollen und mit dickem, krümelig-eitrigem, gelblich-weißen Belage bedeckt. Aus den kleinen Bronchien ist dicker Eiter auszudrücken. Die linke Lunge kollabiert, zeigt bei Betastung knotige Verdickungen, deren Größe zwischen der einer Bohne, und eines Hirsekornes schwankt und von deren Schnittfläche eine gelblich-eitrige Masse abziehbar ist. Das zwischenliegende Lungengewebe ohne Befund. In der Lungenspitze zwischen Narbensträngen käsige Tuberkel. Das peritracheale Bindegewebe narbig verdickt und von Lymphdrüsen durchsetzt, welche teilweise verkäst, teilweise vereitert sind. Milz vergrößert, schlaff, Schnittfläche dunkelrot, Pulpa hervorquellend, unter der Kapsel hirsekorngroße, gelblich-weiße Knötchen. Die Nieren sind über mittelgroß, die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kapsel ist leicht abziehbar und zeigen auf der Oberfläche verstreut und in Gruppen angeordnet derbe, kalottenförmig erhabene, weißlich-gelbe Knötchen, welche stellenweise von einem hämorrhagischen Hof umgeben sind. Auf der Schnittfläche finden sie sich am ehesten in der Rindensubstanz, auf Druck entleeren sie spärlich gelben Eiter. Im übrigen ist die Substanz der Niere livid, die Zeichnung etwas verschwommen, die der Pyramiden desgleichen. Die Hinterstränge des Rückenmarkes sind im Rücken- und Lumbalteile grau und durchscheinend. Sonst finden sich keinerlei pathologische Veränderungen. Diagnose: Bronchopneumonia cat. confl. partim abscedens et necrotisans lobi superioris pulm. d. et bronchopneumonia disseminata pulm. sin. Bronchitis diphtherica et peribronchitis phlegm. l. d. Lymphadenitis supp. peribronchialis. Abscessus permulti myocardii, renum, lienis, peritonei et cutis. Pyaemia. Splenitis acuta hyperpl. Degeneratio adiposa striata myocardii et parenchymatosa renum. Degeneratio grisea funiculorum post. medullae spinalis. Aortitis syphilitica et atheromatosis mai. grad. cum ectasia arcus aortae. Arteriosclerosis arteriarum periphericarum et coronarium cordis. Aneurysma ventriculi cordis sinistri et thrombosis parietalis ibidem.

Das eigenartige, der Tuberkulose ähnliche Bild der pyämischen Metastasen im Anschluß an die schweren Veränderungen der Lunge ließ die Frage nach der Natur des Krankheitserregers auftauchen. Schon die makroskopische Betrachtung wies darauf hin, daß die Quelle der Pyämie in den Veränderungen der Lunge zu suchen sei. Es wurde daher der Eiter der Lunge, des Herzens und der Nieren an Strichpräparaten eingehend untersucht. Die einfache Färbemethode hatte kein Resultat, wohl aber ergab sich ein solches bei Anwendung der Gramschen Methode, welche in den eitrigen Sekreten Pilzfäden zeigte. Es waren dies gleichmäßig dünne, nach Gram sich gut färbende, segmentierte, lange Fäden, welche wellenförmigen Verlauf zeigen, sich vielfach verzweigen und stellenweise an den Endästen kolbige Verdickungen aufweisen. Diese Gebilde stehen bezüglich der Morphologie und Färbbarkeit dem Actinomyces nahe und unterscheiden sich von diesem nur dadurch, daß sie nicht in Drusen angeordnet sind und an ihren Enden echte Sporen, Konidien, tragen, welche sich ebenso färben wie der Faden. Zum Zweck der Isolierung und des genaueren Studiums des Pilzes wurden Züchtungsversuche auf verschiedensten Nährböden und unter verschiedensten Bedingungen vorgenommen, da nicht auszuschließen war, daß es sich um einen eigenartigen Stamm von Actinomyces handeln könne, dessen Züchtung bekanntlich oft nur nach vielen Bemühungen gelingt. Doch ergab sich bereits nach 24 Std. Bebrütung auf sämtichen Nährböden ein überraschendes Resultat: auf dem Agar hatten sich bei aërober Züchtung stecknadelkopfgroße, schneeweiße Kolonien mit gezähntem Rand entwickelt, welche am Nährboden fest anhafteten; die aus ihnen entnommenen Präparate entsprachen in allem den Präparaten aus dem genuinen Eiter. Die Kolonien zeigten ein langsam fortschreitendes Wachstum, konfluierten miteinander, doch blieben die einzelnen Bestandteile des so entstandenen Rasens erkennbar. Auf der Oberfläche der Bouillon entwickelte sich eine dichtweiße Kahmhaut. Die Bouillon selbst blieb rein und mit der Zeit setzte sich an ihrem Boden ein weißer, watteähnlicher Satz ab. Auf der Kartoffel wuchsen weiße Kolonien, welche nach längerer Zeit gelb wurden. Auf eiweiß- und glyzerinhaltigem Närboden (Agar, Bouillon) wuchsen Kolonien, welche anfangs weiß waren, später lichtgelb und orangerot wurden und nach mehrwöchigem Wachstum den Kulturen des Aktinomyces ähnelten. Auf der Oberfläche des Traubenzuckeragars und im Stich wuchs der Stamm gut, bildete jedoch kein Gas. Gelatine wurde verflüssigt, auf

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lackmusnährboden bewirkt er keine Reaktionsänderung. Als charakteristisches Merkmal ergab sich der penetrante Schimmelgeruch der Kulturen. Im mikroskopischen Präparate finden sich bei Untersuchung von frischen Kulturen überwiegend Pilzfäden. Mit dem fortschreitenden Alter nahmen diese an Zahl ab und zeigten sich von kleinen, bazillenähnlichen Gebilden überdeckt, welche bei näherer Untersuchung Größenunterschiede aufwiesen, stellenweise ellipsoide Form zeigten und die Gramsche Färbung intensiv zurückhielten. Sie sind als Fragmentationsformen, bzw. als Sporen anzusprechen.

Die histologische Untersuchung bestätigte ebenfalls die Richtigkeit des Obduktions- und bakteriologischen Befundes. Aus den verschiedenen Organen angefertigte Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin nach van Gieson, Weigert, Ziehl-Neelsen und Gram gefärbt.

Die Schnitte aus dem Oberlappen der rechten Lunge zeigten das Bild der krupösen Pneumonie: die Alveolen sind mit Leukozyten und Fibrin erfüllt und enthalten, entsprechend der chronischen Blutstauung, in großer Zahl Epithelien mit Pigmentkörnchen. In der Kaverne des rechten Oberlappens ist das Lungengewebe teils nekrotisiert, teils in eitriger Einschmelzung. Am Rand der nekrotischen Bezirke findet sich vielfach Karyorhexis, daneben auch vielkörnige Riesenzellen in einer Anordnung, welche an Tuberkel erinnert. In den nach Gram gefärbten Schnitten sind im Bereich der fibrinösen Entzündung überhaupt keine Bakterien auffindbar, jedoch im Innern der Abszesse, besonders an deren Wandteilen, finden sich zwischen den Leukozyten Streptrothrixfäden in großer Zahl, welche in morphologischer und färberischer Hinsicht in allem den im Eiter nachgewiesenen Fäden entsprechen. Aehnliche Bilder findet man in den Schnitten der kleinen Herde in der linken Lunge. Die Schleimhaut des rechten großen Bronchus zeigt oberflächliche Nekrose, die Blutgefäße der Submucosa sind stark erweitert, hyperämisch, das Bindegewebe zeigt dichte Leukozyteninfiltration und reichlich Pilzfäden. Das Bindegewebe des Herzmuskels ist vermehrt und zeigt stellenweise hyaline Degeneration. In den kleinen Abszessen des rechten Ventrikels und im Zentrum eines eitrig erweichten Thrombus wurden die Fäden ebenfalls nachgewiesen, ebenso in den kleinen, spärlichen Abszessen der Milz und in denen der Niere, deren Parenchym in trüber Schwellung ist. Die Glomeruli zeigen keine Veränderung.

Die Tierpathogenität wurde an Kaninchen, Mäusen und Meerschweinchen geprüft. Die beiden ersteren wurden mit $^1/_{10}$ resp. $^1/_{100}$ ccm einer frischen Bouillonkultur subkutan geimpft. An der Injektionsstelle entstand je ein kleiner Abszeß, welcher lokalisiert blieb, offensichtlich infolge der geringen Menge und der langsamen Resorption des Infektionsmaterials. Ein Meerschweinchen wurde mit $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intrakardial geimpft und verendete am 4. Tage nach der Impfung unter Krämpfen und großem Kräfteverfall. Bei der Obduktion fanden sich Veränderungen, die an miliare Tuberkulose erinnern. Das Herz war sozusagen durchwachsen von mohnkorngroßen, gelblichweißen Knötchen, welche sich in geringer Zahl an der parietalen und viszeralen Fläche der Pleura und des Peritoneums, in der Leber und Milz, in großer Zahl in den Nieren und Nebennieren, Bauchmuskeln und in der Hirnrinde fanden. Die Knötchen sind an allen Fundorten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gleich groß, gelblich-weiß, ziemlich dicht, und ergaben auf allen Nährböden denselben Fadenpilz, welcher der beschriebenen Streptothrix vollständig entspricht. Ihr histologischer Aufbau entsprach einem Pseudotuberkel: im Zentrum Nekrose, an der Grenze dieser Epitheloidzellen mit wechselnd großen, teils geschrumpften, teils zerfallenen Kernen; als 3. Schicht folgen Leukozyten, welche gegen das normale Gewebe einen deutlichen Demarkationswall bilden. In sämtlichen Schnitten fand sich bei Gram-Färbung dieselbe Streptothrix.

Es gelang also, als Erreger der Pyämie eine Streptothrixart zu isolieren, welche am ehesten Verwandtschaft mit einem von Scheele und Petruschky beschriebenen und Streptothrix gedanensis benannten Stamm zeigt, wie sich aus der folgenden vergleichenden Tabelle ergibt:

Streptothrix gedanensis:

	Scheele und Petruschky	Batisweiler
Mikroskopisches Aussehen:	Lange, zarte Fäden mit echten Verzweigungen im Gewebe, stark gelockt, in den Kulturen meist sanft gebogen. In älteren Kulturen teilweise Quellung der Fäden, Zerfall in Stäbchenfragmente, Bildung von Konidienketten.	Desgl.
Biologie:	Wächst langsam und spärlich, am besten bei Bruttemperatur. Unbeweglich. Schimmelgeruch.	Desgl. Aërob.
Gelatine:	Kreideweiße, sammetartige, trockene, sternchenförmige bis halbkugelige Kolonien. Langsame Erweichung.	Spärliches Wachstum. Langsame Erweichung.
Agar:	Weiße, sternförmige, trockene Kolonien, die fest am Nährboden haften. Stark. Schimmelgeruch.	Desgl.
Bouillon:	Auf der Oberfläche kleine, weiße Schuppchen mit trockener, sammetartiger Oberfläche. Bodensatz: geformte, durchscheinende Kugeln.	Desgl. Bodensatz watteähnlich.
Kartoffel:	Geringe Vergrößerung des ausgesäten Materiales.	Der Belag wird allmählich gelb
Serumagar:	—	Weiße, bald gelbe Kolonien, welche mit der Zeit konfluieren. Schimmelgeruch.
Glyzerinagar:	—	Weißer Belag, welcher mit der Zeit eine gelbe Kruste bildet, am Rand derselben weiße Zone. Schimmelgeruch.
Glyzerinbouillon:	—	Auf der Oberfläche konfluierende, runzelige, gelbe Membran; am Boden fadenförmiger Satz.
Tierpathogenität:	Im Kaninchen subkutane Abszesse.	Im Kaninchen, Maus: subkutane Abszesse. Im Meerschweinchen: pseudotuberkuloseähnliche Pyämie.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ergibt sich nicht nur in der Natur des Krankheitserregers in beiden Fällen eine Aehnlichkeit, sondern auch im Verlaufe der Fälle, indem es sich bei dem Kranken von Scheele und Petruschky ebenfalls um ein chronisches Lungenleiden handelte, im Verlauf dessen subkutane Abszesse entstanden, deren Untersuchung bereits am Lebenden die Diagnose der Streptotrichosis aufzustellen erlaubte, welche auch durch die Sektion bestätigt wurde. In der einen Lunge fand sich ausgebreitete Nekrose mit Eiterung; die abgestorbenen Teile waren unter Hinterlassung von Kavernen mit zerklüfteter Wand abgestoßen worden. Der Eiterungsprozeß hatte nach Mediastinum, Pleura übergegriffen und zuletzt zur Bildung subkutaner Eiterherde geführt, aus denen der Nachweis des Pilzes gelungen war.

Ebenso vermochten Sabrazès und Rivière die Diagnose der Streptotrichosis am Lebenden aus der Untersuchung des Sputums und des Eiters der Abszesse aufzustellen. Sie fanden Fäden, welche dem Actinomyces glichen, aber keine Drusen bildeten. Im Tierversuch ergab sich ein positives Resultat nur unter Hinzufügung von Milchsäure, worauf ein als Pseudotuberkulose zu bezeichnendes Krankheitsbild entstand. Im Falle Löhleins entwickelten sich kurze Zeit vor dem Tode eine Pneumonie und Hautabszesse. Bei der Sektion fand sich eitrige Meningitis, Abszesse im Gehirn, in den Brust- und Bauchmuskeln, Perikarditis und Abszesse im Herzmuskel, bronchopneumonische Abszesse und Pleuritis und im Oesophagus, in der Schilddrüse, der Darmwand, der Leber sowie in der Niere mehrfache Abszesse. Der gezüchtete Fadenpilz zeigte in vieler Hinsicht Aehnlichkeit mit der Streptothrix gedanensis. Desgleichen fand Silberschmidt in der Lunge und in der Haut Abszesse, aus denen die Streptothrix gedanensis isoliert werden konnte. Im Falle Fraenkels wurden Eiterherde in den Lungen und Nieren nachgewiesen; die Streptothrix gedanensis ließ sich aus diesen und aus dem Blute der Hirngefäße kultivieren. Die Versuchstiere starben unter dem Bilde einer Pyämie, welche der miliaren Tuberkulose ähnlich war. Engelhardt und Löhlein fanden ebenfalls in den Lungen neben einer konfluierenden Bronchopneumonie vielfache Abszesse, desgleichen im Herzen und in der Milz. Außerdem waren in der Leber gangränöse Herde und Blutungen und im Gehirn Abszesse nachzuweisen. Aus allen diesen Veränderungen wurde derselbe Stamm gezüchtet. Bei einer Pyämie von langsamem Verlauf fanden Conti und Boni im Gehirn, in der Milz und Leber miliare Abszesse im Gefolge einer Streptothrix-Infektion. Van Loghem berichtet über einen Fall von puerperaler Pyämie, welche unter dem Bilde der Tuberkulose und Aktinomykose verlief. Aus den Eiterherden der Haut wurde eine Streptothrix gezüchtet, welche bei Kaninchen zu chronischen Abszessen im Unterhautgewebe und zur Entstehung von pseudotuberkuloseähnlichen Bildungen in den parenchymatösen Organen führte.

Diese, in der mir zur Verfügung stehenden reichhaltigen Literatur spärlich auffindbaren Fälle sollen nicht nur zeigen, wie selten die Fälle von Pyämie infolge von Streptothrix-Infektion beim Menschen vorkommen, obgleich diese eben infolge ihrer Rarität eingehend untersucht und stets veröffentlicht werden, sondern auch eine Uebersicht über die Entstehung der Pyämie geben. Die 8 aus der Literatur gesammelten und der vorliegende 9. beweisen zweifelsohne, daß eine Streptothrix-Infektion zu allgemeiner Sepsis und zu tödlicher Erkrankung führen kann. Der Ausgangspunkt dieser Erkrankung wird am häufigsten in den Bronchien und im Lungengewebe gefunden, wohin dieser Keim durch die Luftwege gelangt: In den 9 Fällen ging die Pyämie 7mal von der Erkrankung der Lunge aus. Ihr Verlauf kann akut und chronisch sein, meist entstehen im Verlauf der Eiterung und des Gewebszerfalles Metastasen im Gehirn und in den übrigen parenchymatösen Organen. Besonders häufig kommen erstere Metastasen auf Grund von Bronchi-

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

ektasien vor, welche die Prädilektionsstellen der Streptothrix sind, in denen dieser Pilz auch oft als Saprophyt nachgewiesen wird.

Eine Prädisposition zu schwereren Erkrankungen und Pyämie finden wir bei geschwächten Individuen, wofür auch der hier berichtete Fall ein Beispiel ist.

Die Diagnose kann durch die Untersuchung des Sputums und etwaiger Eiterherde auf dem Wege der Gram-Färbung und der Kultur ohne Schwierigkeiten gestellt werden, da dieser Pilz zum Wachstum keinen besonders präparierten Nährboden benötigt und auch bei Zimmertemperatur gedeiht.

Die richtige Diagnose ist auch für die Therapie von Wichtigkeit, da einerseits dieser Pilz auf Jod reagiert und andererseits die durch ihn verursachten Erkrankungen auch durch Behandlung mit Streptotrichin, welches ähnlich wie das Tuberkulin hergestellt wird, zu heilen sind (Petruschky).

Literatur.

1) Petruschky, Die pathogenen Trichomyzeten und Trichobakterien. (Kolle-Wassermann. Bd. 5. 1913.) — 2) Engelhardt u. Löhlein, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 75. — 3) Fraenkel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. — 4) Huntemüller, Zieglers Beitr. Bd. 69. — 5) Van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. — 6) Löhlein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63. — 7) Verebély, Die Bedeutung der Fadenpilze in der Pathologie. (Orvosi Hetilap. 1914. Ungarisch.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Fäulnisbakterien im Darm.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität zu Woronesh.]

Von Prof. **M. J. Stutzer.**

Bakterien, welche die Fähigkeit besitzen, Eiweiß zu zerlegen, sind immer im Darme vorhanden. Diejenigen aëroben Fäulnisbakterien, die im Darme eines gesunden Menschen vorkommen, bilden eine verhältnismäßig kleine Gruppe, die aus B. subtilis, B. mesentericus vulg., B. proteus vulg., B. faecalis alcaligenes, B. fluorescens putridus Flügge, B. pyocyaneus und B. Zopfii besteht. Aber außer diesen Mikroorganismen erscheinen bei pathologischen Prozessen im Darm, die von Schleimhautstörungen begleitet werden, neue Bakterien, welche eine stark ausgesprochene proteolytische Fähigkeit haben. Das Auftreten dieser steht mit dem veränderten Bestande des Darminhaltes im Zusammenhange, je nach dem Zudrang von Blut, von Zellelementen der Schleimhaut und von Eiter. Die schärfsten pathologischen Veränderungen in der Schleimhaut kommen bei Cholera und Dysenterie vor, außerdem bei Unterleibstyphus und paratyphösen Infektionen, die sich im Darme lokalisieren, folglich findet man Fäulnisbakterien gerade bei diesen Erkrankungen im Darme in allergrößter Menge vor.

Bei der Untersuchung der aëroben Darmflora bei den angeführten Infektionserkrankungen hat Prof. Baerthlein im Laboratorium des Kriegs-

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gefangenenlagers H. meine Aufmerksamkei auf gelbe Kolonien in der Aussaat der Stuhlproben gelenkt, die aromatischen Geruch entwickeln. Kolonien von diesem Mikroorganismus habe ich 18mal während der Arbeit im Laboratorium gefunden. Leider sind sowohl die Kulturen, wie auch das Manuskript der 1915 vollendeten Arbeit während der russischen Revolution verloren gegangen. Erst 1921 konnte ich, wenn auch mit bedeutend geringerem Material, die betreffenden Bakterien ausscheiden und so teilweise die frühere Arbeit fortsetzen.

In den Stuhlproben von Cholerakranken wurden gelbe Kolonien mit intensiv aromatischem Geruch bei 5 von 24 gefunden und in H. haben wir diesen Mikroorganismus aus dem Kote bei Unterleibstyphus, bei Paratyphus, Dysenterie und Cholera kultiviert. Ich habe denselben in meiner Arbeit über die Darmflora bei Cholera (1) Bacterium faecale aromaticum genannt.

Das B. faecale aromaticum ist ein kleines Stäbchen von 0,6 bis 1 μ Länge und 0,3—0,5 Breite, unbeweglich und wird in gewöhnlichen Farblösungen gut gefärbt. Nach Gram färbt es sich aber nicht. In gewöhnlichen Nährböden wächst B. faec. aromaticum unter aëroben Bedingungen gut, vermehrt sich in Bouillon stark und ruft intensive Trübung des Nährbodens hervor. Auf dem Boden des Röhrchens sammelt sich ein üppiger, lockerer Niederschlag.

Die Gelatine wird schnell verflüssigt. Bei der Aussaat bildet sich auf der Oberfläche der Gelatineplatte rund um die Kolonie eine schalenförmige Vertiefung, gefüllt mit einer flüssigen Masse, in deren Zentrum die gelbe, zerfließende Masse der Kolonie zu sehen ist. Bei Gelatinestichkultur erfolgt die Verflüssigung des Nährbodens anfangs trichterartig, darauf schichtenweise, wobei der Peptonisationsprozeß zuerst sehr energisch ist, dann aber infolge des geringen Luftzutritts zu den tiefen Schichten des Nährbodens langsamer wird.

Was die Form der Kolonien von B. aromaticum anbetrifft, so kann man 2 Varianten davon unterscheiden, deren ersteres häufiger ist. 24 Std. alte Kolonien dieses Typus haben 3—4 mm Durchschnitt; ihre Oberfläche ist matt und im Zentrum erhöht. Die Gesamtansicht der Kolonien erinnert an einen flachen Konus mit radialen Strichen und einem gezackten Rande. Die Kolonie wächst nach 3—4mal 24 Std. bis 0,5—1,0 cm im Durchschnitt. Das Zentrum einer solchen reifen Kolonie wird flach und saftig; die Kolonie ist ausgesprochen gelb gefärbt. Im durchgehenden Licht sind die Kolonien des B. aromat. durchsichtig, glasartig und deutlich irisierend.

Der 2. Variant des B. faecale aromaticum unterscheidet sich vom 1. durch scheibenartige Kolonien, deren Ränder glatt sind, während die Oberfläche feucht und glänzend ist. Diese Kolonien sind, ebenso wie diejenigen des 1. Typus gelblich im auffallenden, durchsichtig im durchgehenden Licht und irisieren gut. Strichaussaat auf schrägem Agar wächst außerst dicht, sich immer in die Breite ausdehnend, wobei sich ein unebener, gezackter Rand bei Kulturen des 1. und ein ebener, erhöhter bei denen des 2. Typus bildet. Bei auffallendem Lichte zeigt die Kultur eine gelbliche Farbe. Von der unteren, der Agaroberfläche anliegenden Seite gesehen, irisiert die Kultur. Besonders charakteristisch ist bei diesen Kulturen aber ihr intensiver, eigenartiger, angenehmer, aromatischer Geruch.

Auf Conradi-Drigalski-Agar wächt das B. faec. aromaticum gut, noch großere Kolonien bildend, als auf gewöhnlichem Fleisch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

peptonagar; Lackmusmolke wird blau. Tiefe Schichten des Nährbodens werden farblos und Reduktionserscheinungen machen sich in allen flüssigen Lackmusnährböden bemerkbar. In Barsiekow-Nährböden mit Glukose, Laktose und Mannit entfärben sich die tiefen Schichten des Nährbodens. Der Gesamtcharakter dieser Veränderungen der Böden ist aber ein und derselbe. Doch ist bemerkenswert, daß im Barsiekow-Nährboden mit Glukose die obere Schicht der Lösung stark getrübt, bei der mit Laktose aber weniger trübe, der mit Mannit aber schwach getrübt ist. Gasentwicklung in Glukose, Laktose und im Mannit erfolgt nicht.

Milch gerinnt nicht, peptonisiert sich aber schnell und klärt sich ab. Der Abklärungsprozeß der Milch ist in 48—72 Std. abgeschlossen. Auf der Oberflache des Nährbodens bleibt nach dem Abschluß des Peptonisationsprozesses eine dünne, leicht zerbrechliche Fettschicht, welche beim Schütteln des Röhrchens in große Klumpen zerfällt.

Geronnenes Blutserum verdünnt sich schnell. In den ersten 24 Std. bildet sich längs dem Striche auf der Oberfläche des Nährbodens eine tiefe Rinne. In den zweiten 24 Std. verdünnt sich alles Serum, setzt sich als trübe, gelbliche Flüssigkeit ab und nach einigen Tagen auch die Bakterien, wogegen sich das Serum von neuem zu einer gallertartigen, durchsichtigen Masse verdichtet.

Im Achalm-Nährboden zerfällt das Eiweiß in eine breiige Masse, wird in 3 oder 4mal 24 Std. durchsichtig, zerbrechlich, um dann beim Schütteln in kleine Stückchen zu zerfallen, die sich teilweise auflösen. Dieser Auflösungsprozeß des Eiweißes erfolgt in den oberen Schichten des Nährbodens, während auf dem Boden des Röhrchens das Eiweiß lange Zeit unverändert bleibt.

Auf Grund der angeführten Eigenschaften ist anzunehmen, daß das Bacterium faecale aromaticum zu der Gruppe der Fäulnismikroorganismen gehört, welche die Fähigkeit besitzen, Eiweiß zu zerlegen. Das proteolytische Ferment, welches durch das B. faec. aromaticum gebildet wird, besitzt eine beträchtliche Kraft, infolge deren die Peptonisationsprozesse sehr schnell vor sich gehen.

Das Bacterium faec. aromaticum ist nicht identisch mit den B. chromaromaticus von Gallier (2), welcher ein bewegliches Stäbchen darstellt, das auf Gelatine in hellgrünen, auf Agar in weißlichen Kolonien wächst.

Für Versuchstiere ist das B. faec. aromaticum nicht pathogen, wie Einspritzungen von $^1/_2$—1 Oese in die Haut, sowie intraperitoneal und intravenös bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen, erwiesen haben. Zweifellos kommt auch beim Menschen das B. faec. aromaticum im Darme saprophytisch mit metatrophem Ernährungscharakter vor.

Zum Beweise der Einheit aller Kulturen des B. faecale aromaticum wurde ein Kaninchen durch 3malige intravenöse Einspritzung einer dieser Kulturen immunisiert. Dosen von 1—5 Oesen der Kulturen, welche durch 1-stünd. Erhitzung bis 60° abgetötet worden waren, vertragen Kaninchen ohne bemerkbare Reaktion. Der Filter des Serums betrug 1:1600. Alle übrigen Kulturen des B. faecale aromaticum wurden von diesem Serum bis zur Titergrenze agglutiniert

Streicht man das B. faecale aromaticum, vermischt mit irgendeinem Darmmikroorganismus (B. coli com., B. typhi abdominal., Vibr. cholera) auf Agar aus, so zeigt sich am Striche ein dichtes Wachstum, in welchem es fast unmöglich ist, das Vorhandensein von

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolonien zweier Typen festzustellen. Die Fähigkeit des B. faecale aromaticum, sich bei der Entwicklung mit verschiedenen Mikroorganismen zu vermischen, erklärt die verhälinismäßig große Schwierigkeit, reine Kulturen dieses Stäbchens zu erhalten. Man muß daher die Aussaat auf die Agarplatten wiederholen, um Kulturen desselben ohne Zusatz von fremden Bakterien zu erhalten.

Literatur.

1) Stutzer, M., Arch. f. klin. u. experim. Med. 1922. Nr. 4—6. [Russisch.]
2) Migula, System der Bakterien. Bd. 2.

Nachdruck verboten.

Ueber aktive Immunisierung mit „gekupferten" Spirochätenkulturen bei der Weilschen Krankheit.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (serologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamtes.]

Von **H. Beger.**

Experimentelle Untersuchungen über Immunisierung gegen die Spirochäten der Weilschen Krankheit sind schon von verschiedenen Seiten unternommen worden.

In Deutschland waren Uhlenhuth und Fromme (1) die ersten Autoren, die sich eingehender mit dieser Frage beschäftigten; sie fanden, daß 3 Meerschweinchen, die 3mal in wöchentlichen Abständen je 1 ccm einer durch Zusatz von 0,5-proz. Karbolsäure abgetöteten Kultur intraperitoneal erhalten hatten, bei der Nachimpfung mit virulentem Leberbrei immun waren. Von weiteren 4 Meerschweinchen, die je 2mal subkutan alte, abgestorbene (?) Kulturen erhalten hatten, blieben bei der späteren Nachimpfung 2 gesund, während 2 typisch erkrankten und starben. Die beiden Tiere, bei denen die Immunisierung nicht gelungen war, hatten 1mal 1 ccm, und das 2. Mal 2 ccm Kultur erhalten. Mit Virusblut, das durch Antrocknen bei Zimmertemperatur in Petri-Schalen seine Infektiosität völlig verloren hatte, gelang eine aktive Immunisierung auch durch 6malige Vorbehandlung nicht. Zu ähnlichen Ergebnissen führten Versuche mit angetrocknetem, spirochätenhaltigem Lebermaterial. Da auch Tiere, die durch physikalische (z. B. Hitze etc.) oder chemische Mittel abgetötetes Virusmaterial erhalten hatten, häufig erkrankten, schien es den Autoren, daß eine aktive Immunisierung mit völlig abgetötetem Material gar nicht oder mindestens nicht regelmäßig gelingt. Nachdem Ungermann (2) die Züchtung der Weil-Spirochäten in Kulturen gelungen war, haben Uhlenhuth und Fromme (3) mit großen Mengen Kulturflüssigkeit, sogenannten „Wasserkulturen", Kaninchen zwecks Gewinnung eines hochwertigen Immunserums vorbehandelt; doch schien es ihnen nach den Versuchen, daß „das frisch vom Meerschweinchen genommene, hochvirulente Organmaterial sich besser für die Erzielung hochwertiger Immunsera eignet". Nach den Beobachtungen von Uhlenhuth und Fromme war also eine zuverlässige Immunität der Versuchstiere nur bei der Immunisierung mit lebendem Material festzustellen, während die mit totem Material vorbehandelten Tiere bei der Nachimpfung nur dann immun waren, wenn die Abtötung mit Vorsicht erfolgt war. Bei einer sehr vorsichtigen Abtötung der Spirochäten bleibt aber die Möglichkeit offen, daß ein Teil der Erreger nur abgeschwächt war, so daß es sich um eine Immunisierung mit abgeschwächtem lebenden Virus gehandelt hat. Reiter (4) stellte fest, daß man mit 1 ccm einer 4—5-wöchigen lebenden Kultur Tiere (Meerschweinchen?) ohne sichtbare Erkrankung gegen eine spätere absolut tödliche Dosis schützen, dagegen mit einer 8-tägigen abgetöteten (wie?) Kultur keine Immunität erzielen kann. Die japanischen Autoren Inada, Ido, Kaneko, Hoki, Ito, Wani und Okuda (5) verwandten zur Immunisierung von Meerschweinchen lebende Reinkulturen, die mit 0,5 proz. Karbolsäure versetzt wurden, und konnten nach 3maliger Injektion von relativ großen Dosen (2—3 ccm Impfstoff) Immunität erzielen. Sie brachten diese Methode auch bei Menschen zur Anwendung, wobei sie mit mehreren

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

steigenden Dosen teilweise eine Immunität erreichten. Ido, Hoki, Ito und Wani (6) verwandten zur Immunisierung karbolisierte (0,5-proz.) Reinkulturen sowie ebenso karbolisierte Leberemulsion, die nachträglich 1 Woche im Eisschrank aufbewahrt waren, mit Erfolg, ohne indes im Blute der immunisierten Tiere Antikörper nachweisen zu können. Die Tiere erhielten mehrmals große Dosen, die bisweilen sehr toxisch waren, was die Autoren auf Karbolsäurewirkung beziehen. Nach den Untersuchungen von Haendel, Ungermann und Jaenisch (7) läßt sich nicht nur mit lebenden, abgeschwächten Spirochäten, sondern auch durch Vorbehandlung mit abgetötetem Kulturmaterial bei Meerschweinchen ein deutlicher Impfschutz erzielen. Allerdings war zur Immunisierung mit abgetöteten Spirochäten eine mehrmalige Impfung oder die Verwendung verhältnismäßig großer Kulturmengen notwendig, während die mit kleinen Dosen abgetöteter Kultur vorbehandelten Tiere bei der Nachimpfung erkrankten und der Infektion erlagen. Beispielsweise war ein mit 3 ccm (1/2 Std. auf 60° erwärmter) Kultur geimpftes Meerschweinchen völlig geschützt, während ein 2. mit 0,5 ccm behandeltes leicht, und ein 3. mit 0,25 ccm immunisiertes schwer erkrankte. Auch bei der Herstellung hochwertiger Immunsera für Zwecke der passiven Immunisierung an Kaninchen zeigte es sich, daß man mit lebenden avirulenten und abgetöteten virulenten Kulturen nicht so hochwertige Immunsera erzielen konnte als mit lebendem, hochvirulenten Material. Einen sehr wirksamen Impfstoff konnten Ito und Matsuzaki[1]) (8) dadurch herstellen, daß sie virulente Weil-Kulturen an 3 aufeinander folgenden Tagen 1/2 Std. bei 60° C erhitzten; mit einer 1maligen subkutanen Injektion des bei intravenöser Anwendung allerdings stark toxischen Impfstoffes vermochten die Autoren einen sicheren Impfschutz bei den Versuchstieren zu erzielen und konnten im Serum das Auftreten der Immunkörper durch den Pfeifferschen Versuch nachweisen. Auch ein pulverisierter Impfstoff aus getrockneten Blutgelatinekulturen, der sich ihnen 10mal stärker als der flüssige erwies, zeigte gute schützende Eigenschaften bei den Versuchstieren. In Amerika hat Noguchi (9) ausgedehnte Untersuchungen an Meerschweinchen mit einem Impfstoff ausgeführt, den er dadurch gewann, daß er lebende Weil-Kulturen mit 0,4 Proz. Phenol versetzte, dann scharf zentrifugierte und das gesammelte Sediment 1 Woche unter Toluol aufbewahrte; dann wurde es kulturell auf Spirochätenwachstum geprüft und verwendet. 3 subkutane Injektionen von 0,5 ccm eines solchen Impfstoffes in Zwischenräumen von 5 Tagen bewirkten einen mindestens 8 Wochen dauernden Impfschutz. Bei Verwendung von 0,05 ccm war auch hier der Schutz schon weniger sicher. Sehr günstige Erfolge erzielten Noguchi und Pareja (10) bei Gelbfieber mit Impfstoffen aus Reinkulturen von Leptospira icteroides, die sie durch Erhitzen bei 60° C im Wasserbade während 15 Min. herstellten und ohne Phenolzusatz verwendeten. In diesem Impfstoff war die Leibessubstanz der Spirochäten mikroskopisch nicht mehr deutlich erkennbar. Die Meerschweinchen wurden mit 1maligen Gaben von 0,1, 0,3 und 1,0 ccm dieses Impfstoffes subkutan eingespritzt und dann nach 2 Wochen perkutan infiziert. Die mit 0,1 ccm vorbehandelten Tiere waren nur teilweise, die übrigen dagegen sämtlich geschützt. Die mit solchen Impfstoffen an einer größeren Anzahl von Soldaten (über 300) vorgenommenen Schutzimpfungen zeitigten recht günstige Ergebnisse, sobald genügende Impfstoffmengen angewandt wurden. Die anfänglichen Erfolge konnten durch eine erhebliche Einengung des Impfstoffes später von Noguchi (11) noch verbessert werden. Dieser konzentrierte Impfstoff enthält etwa 2 Milliarden Keime in 1 ccm, schützt aber trotzdem anscheinend nur bei 2maliger Impfung sicher.

Aus allen diesen Arbeiten geht mithin hervor, daß die Verwendung lebender avirulenter Kulturen zur Immunisierung praktisch nicht genügend zuverlässig ist und anscheinend nur dann einen sicheren Schutz bewirkt, wenn die Impfstoffspirochäten nicht völlig avirulent waren, sondern eine abgeschwächte Infektion setzten. Dazu kommt, daß man die Virulenz der Kulturen nicht in der Hand hat. Wenn im allgemeinen auch die Virulenz von Spirochätenkulturen mit der Anzahl der Passagen mehr und mehr abnimmt, so kommen doch andererseits nach aller Erfahrung auch Rückschläge späterer Passagen in die ursprüngliche Pathogenität vor, deren ursächliche Bedingungen nicht klar sind.

Es bleibt also für aktive Immunisierungen in der Praxis in erster Linie die Verwendung abgetöteten Materials übrig, und dabei kommt es anscheinend ebenso auf eine maximale Virulenz des verwendeten Kulturmaterials als auf eine schonende, aber sichere Art der Abtötung an. Es ist meines Erachtens mindestens sehr zweifelhaft, ob die 1/2-stünd. Erwärmung auf 55—60° C eine derartig schonende und dabei genügend sichere Art der Abtötung darstellt.

Für praktische Zwecke müssen solche durch Erwärmen abgetötete Impfstoffe schließlich doch noch mit einem Konservierungsmittel versetzt werden, um eine nach-

1) Zitiert nach Noguchi, Journ. of exp. Med. Vol. 28. 1918. p. 561.

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

trägliche bakterielle Verunreinigung zu vermeiden. Für bakterielle Impfstoffe benutzt man bekanntlich Karbolsäure in $^1/_2$-proz. Konzentration, eine Verdünnung, die nach den vorliegenden Erfahrungen auch zur Abtötung der Spirochäten ausreicht, so daß man, wie es von verschiedenen Seiten geschehen ist, auf die vorherige Abtötung durch Erwärmen verzichten kann.

Ob die Karbolsäure mit ihren eiweißfällenden und toxischen Eigenschaften ein ideales Mittel für diese Zwecke ist, erscheint allerdings auch fraglich, und wenn auch die antigenen Eigenschaften eines bakteriellen Impfstoffes durch den Zusatz von 0,5-proz. Karbolsäure anscheinend nicht merklich beeinträchtigt werden, so ist dies bei den schon gegenüber der Trocknung und Erwärmung so empfindlichen Spirochäten doch wesentlich unwahrscheinlicher.

Angeregt durch die Untersuchungen von Laubenheimer (12) über die Abtötung von bakteriellen Impfstoffen durch oligodynamische Metallwirkung, habe ich auf Veranlassung von Herrn Oberregierungsrat Dr. Manteufel einige Versuche mit „gekupferten“ Impfstoffen gemacht, über die im folgenden kurz berichtet werden soll. Laubenheimer hebt als Vorzüge solcher durch oligodynamische Metallwirkung sterilisierter bakterieller Impfstoffe hervor, daß ihre Giftigkeit bei gut erhaltener immunisatorischer Wirkung wesentlich herabgesetzt ist. Von der Richtigkeit dieser Entgiftung habe ich mich selbst unter anderem auch bei der Herstellung von Paratyphus A-Impfstoff zur Gewinnung von hochwertigem Immunserum, dessen Herstellung bekanntlich bei Verwendung von 60° C-Bakterien ziemliche Schwierigkeiten macht, selbst überzeugt. Als weiteren Vorzug, der für die Verwendung solcher „gekupferter“ Impfstoffe spricht, möchte ich auf Grund eigener Erfahrungen (13) bei der Konservierung von präzipitierenden Antiseren noch anführen, daß sie auch nach der Entfernung der Kupferbeilage gegen spätere bakterielle Verunreinigungen — abgesehen von Schimmel- und sporenhaltigen Spaltpilzen — stark geschützt sind.

Da nach den Untersuchungen von Herzberg (14) die oligodynamische Wirkung auf Sauerstoffwirkung beruht, bei der den Metallionen nur eine vermittelnde Tätigkeit zukommt, so kann man sich vorstellen, daß auf diesem Wege auch bei so empfindlichen Mikroorganismen, wie sie die Spirochäten darstellen, eine schonende, aber wirksame Abtötung, ohne Schädigung der antigenen Eigenschaften stattfindet.

In mehrere Weil-Kulturröhrchen [10-proz. Kaninchenserumwasser nach Manteufel (15)], die aus dem Blute eines an typischer Weilscher Krankheit eingegangenen Meerschweinchens angelegt und gut angegangen waren, wurde metallisches Kupferblech (sog. Schablonenblech) in der Weise versenkt, daß es von der Kulturflüssigkeit vollkommen bedeckt war. Vor dem Einbringen des Kupfers, sowie nach 5, 10, 20, 30 und 60 Min. und weiterhin in Abständen von 1 Std. wurden aus diesen mit Kupfer beschickten Röhrchen Präparate angefertigt, sowie gleichzeitig weitere Kulturröhrchen mit verdünntem Kaninchenserum beimpft. Die Kulturröhrchen wurden in der von uns geübten Weise auf dem Brutschrank gehalten.

Bei der Betrachtung der Präparate im Dunkelfeld zeigte sich hierbei, daß nach 2 Std. die vorher gut beweglichen Weil-Spirochäten sich erheblich langsamer fortbewegten. Nach weiteren 3 Std. ließen sich nur noch bei vereinzelten Spirochäten Bewegungen feststellen, während die meisten unbeweglich und starr geworden waren. 6—7 Std. nach dem Beginn der Kupfereinwirkung war bei allen Spirochäten keine Bewegung mehr wahrnehmbar. Die aus den mit Kupfer beschickten Röhrchen angelegten Kulturen bestätigten diese Befunde insofern, als alle nach 4—5 Std. dauernder Kupferbehandlung angelegten Kulturröhrchen steril

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nr. 687	5. 12. 22. 2,0 gekupferte Weil-Spirochätenkultur i. p. 14. 12. 22. Dgl. i. p. 22. 12. 22. Dgl. i. p.	5. 1. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	Einige leblose Spirochäten	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 688	5. 12. 22. 2,0 gekupferte Weil-spirochätenkultur i. p. 14. 12. 22. Dgl. i. p. 22. 12. 22. Dgl. i. p.	5. 1. 22. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	—	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 689	.	5. 1. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	+	++	++	+++	† Sektion: Typischer Weil. Leberbrei: Spirochäten +++ Blutkulturen: Spirochäten: +++			
Nr. 682	20. 1. 23. 2,0 gekupferte Weil-spirochätenkultur i. p. 25. 1. 23. Dgl. i. p.	9. 2. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	Einige leblose Spirochäten	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 683	20. 1. 23. 2,0 gekupferte Weil-spirochätenkultur i. p. 25. 1. 23. Dgl. i. p.	9. 2. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	Einige leblose Spirochäten	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 684	.	3. 2. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	+	+	++	++	++	† Sektion: Typischer Weil. Leberbrei: Spiroch.: +++ Blutkult.: Spiroch.: +++		
Nr. 642	3. 3. 23. 2,0 gekupferte Weil-spirochätenkultur i. p.	19. 3. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	—	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 643	3. 3. 23. 2,0 gekupferte Weil-spirochätenkultur i. p.	19. 3. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	—	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 645	.	19. 3. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	+	++	+++	† Sektion: Typischer Weil. Leberbrei: Spirochäten: +++ Blutkulturen: Spirochäten: +++ Kult. a. Peritonealexsudat: Spiroch.: +++				
Nr. 646	20. 3. 23. 1,0 gekupferte Weil-spirochätenkultur i. p.	31. 3. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemulsion i. p.	—	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 647	20. 3. 23. Dgl. i. p.	31. 3. 23. Dgl. i. p.	—	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 648	20. 3. 23. Dgl. i. p.	31. 3. 23. Dgl. i. p.	—	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 649	20. 3. 23. Dgl. i. p.	31. 3. 23. Dgl. i. p.	—	—	—	—	—	—	—	—
Nr. 678	.	31. 3. 23. 2,0 stark spirochätenhaltiger Leberemultion i. p.	+	++	++	+++	† Sektion: Typischer Weil. Leberbrei: Spirochäten: +++ Blutkulturen: Spirochäten: +++ Kult. a. Peritonealexsudat. Spir.: +++			
Nr. 679	.	31. 3. 23. Dgl. i. p.	+	++	++	+++	†			

blieben, während sich in allen vorher angelegten Kulturröhrchen mehr oder weniger zahlreiche Spirochäten mit guter Beweglichkeit feststellen ließen.

Die durch Kupfereinwirkung unbeweglich gewordenen Weil-Spirochäten ließen bei der Betrachtung im Dunkelfeld keine offensichtliche Schädigung ihrer Zellstruktur wahrnehmen. Vergleichsweise bei 56° C im Wasserbade 1 Std. lang erhitzte Weil-Kulturen zeigten bei weitem deutlichere Veränderungen. Die Spirochäten waren hier meist nicht mehr in toto erhalten, sondern in mehr oder weniger große Trümmerstücke zerfallen. Dort, wo sich noch genauere Konturen feststellen ließen, war die Leibessubstanz in körnchenartige Gebilde aufgefasert. War bei den mit Kupfer behandelten Spirochäten im allgemeinen mehr eine Schrumpfung des Spirochätenleibes feststellbar, so boten die erhitzten Spirochäten im Gegensatz hierzu eher das Bild der Quellung dar.

Zum Zwecke der Immunisierung wurden zunächst 2 Meerschweinchen mit 3 intraperitonealen Injektionen von je 2 ccm auf die beschriebene Weise 24 Std. lang[1]) mit Kupfer behandelter virulenter Weil-Spirochätenkultur in Abständen von 8 Tagen vorbehandelt. Täglich mittels Glaskapillare vorgenommene Bauchpunktionen ergaben im Peritonealexsudat eine geringe Vermehrung des Leukozytengehaltes, jedoch keine Spirochäten. 15 Tage nach der letzten Injektion wurden die beiden Versuchstiere sowie ein unbehandeltes gesundes Meerschweinchen als Kontrolltier mit je 2 ccm stark spirochätenhaltigen Leberbreies eines am gleichen Tage an typischer Weilscher Krankheit eingegangenen Meerschweinchens intraperitoneal gespritzt. Während bei beiden Versuchstieren am nächsten Tage nur ganz vereinzelte, leblose, in den folgenden Tagen niemals lebende oder tote Spirochäten im Peritonealexsudat nachweisbar waren, zeigte das Kontrolltier von Anfang an eine Vermehrung der Weil-Spirochäten in seiner Bauchhöhle und erlag nach 6 Tagen der Infektion.

Nachdem hierdurch erwiesen war, daß durch Vorbehandlung mit „gekupferten" Spirochäten sich aktive Immunität hervorrufen läßt, wurden in der nächsten Versuchsreihe 2 Meerschweinchen mit nur 2 Injektionen in gleicher Weise hergestellten Kupferimpfstoffes vorbehandelt und nach 14 Tagen mit spirochätenhaltiger Leberemulsion eines frisch verendeten Meerschweinchens mit typischem Weil-Sektionsbefund nachgespritzt. Auch in diesem Falle blieben die Versuchstiere vor der Infektion mit virulentem Weil-Material geschützt, während das Kontrolltier erkrankte und einging. Die 3. Versuchsreihe, bei der eine 1malige intraperitoneale Injektion von 2,0 ccm Kupferimpfstoff verabfolgt worden war, ergab das gleiche Ergebnis: Schutz der vorbehandelten Versuchstiere, Tod des Kontrolltieres. Auch mit 1,0 ccm Kupferimpfstoff, der Hälfte der in der 3. Versuchsreihe injizierten Menge, gelang die aktive Immunisierung in gleicher Weise bei den vorbehandelten Versuchstieren, ohne daß sich bei der Infektion mikroskopisch eine Infektion abortiver Natur nachweisen ließ. Infolge der hohen Kosten für Versuchstiere konnten die Untersuchungen nicht auf die Möglichkeit einer weiteren Herabsetzung der Impfdosis ausgedehnt werden (s. Tabelle).

Wie aus den Versuchen hervorgeht, gelingt es mit Hilfe „gekupferter" Weil-Spirochätenkulturen, Meerschweinchen experimentell

1) Die Kupferbehandlung wurde 24 Std. lang vorgenommen, um mit mehrfacher Sicherheit alle Spirochäten in den Kulturröhrchen abzutöten.

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

mittels einmaliger Vorbehandlung sicher vor einer tödlichen Weil-Infektion zu schützen. Die Erfolge sind also mindestens ebenso gut, wenn nicht besser als bei der Verwendung von Impfstoffen, die durch Erwärmen oder Trocknen und durch Karbolzusatz abgetötet worden sind. Ich möchte meinen, daß sie dem Ideal eines möglichst sicher abgetöteten und ungiftigen Impfstoffes bei schonend erhaltenen antigenen Eigenschaften wesentlich näher kommen. Ueber die Haltbarkeit solcher „gekupferter“ Spirochätenimpfstoffe müssen noch Erfahrungen gesammelt werden.

Die aktive Immunisierung dürfte zwar bei der Weilschen Krankheit nur in Ausnahmefällen praktische Bedeutung gewinnen, dagegen ist sie beispielsweise bei der Gelbfieberbekämpfung, wie die Arbeiten von Noguchi zeigen, von entschiedener Wichtigkeit. Auch für Versuche zu einer aktiven Immunisierung gegen andere endemische wie epidemische Spirochätenkrankheiten (Frambösie, Syphilis) sind diese Untersuchungen unter Umständen von Belang. Ich selbst habe mich inzwischen mit der Herstellung von „gekupferten“ Rekurrensimpfstoffen beschäftigt und werde über die Ergebnisse später berichten.

Quellenangaben.

1) Uhlenhuth u. Fromme, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 25. 1916. S. 317 bis 438. — 2) Ungermann, Berlin. klin. Wochenschr. 1916. S. 408–409; Hyg. Rundsch. 1917. S. 107 u. 108. — 3) Uhlenhuth u. Fromme, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 28. 1919. S. 1—118. — 4) Reiter, Dtsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1282—1284. — 5) Inada, Ido, Kaneko, Hoki, Ito, Wani u. Okuda, Kitasato, Arch. of exp. Med. Tokyo. Vol. 1. 1917. p. 53—152; Korrespondenzbl. f. Schweiz Aerzte. 1916. S. 993. — 6) Ido, Hoki, Ito u. Wani, Journ. of exp. Med. Vol. 24. 1916. p. 471—483. — 7) Haendel, Ungermann u. Jaenisch, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 51. 1918. S. 42—113. — 8) Ito u. Matsuzaki, Journ. Chiba med. College. 1916. Nr. 83 u. 84. — 9) Noguchi, Journ. of exp. Med. Vol. 28. 1918. p. 561 bis 570. — 10) Ders. u. Pareja, Journ. Amer. med. Assoc. Vol. 76. 1921. p. 96—99. — 11) Ders., ibid. Vol. 77. 1921. p. 181—185. — 12) Laubenheimer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 92. S. 78—114. — 13) Beger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 210—213. — 14) Herzberg, ebenda. Bd. 90. 1923. S. 113–126. — 15) Manteufel, Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 461—463.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis saprophytischer Spirochäten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes.]

Von Dr. **Margarete Zuelzer** und Dr. **Shiro Oba** (Nagoya, Japan).

Mit 1 Tafel.

Ueber die Verbreitung saprophytisch lebender Spirochäten im freien Wasser wurde in früheren Arbeiten berichtet, und dabei auf die morphologische Uebereinstimmung einiger dieser harmlosen Spirochäten mit verschiedenen gefährlichen Krankheitserregern, wie z. B. mit dem Erreger der Syphilis, der Weilschen Krankheit, des Rückfallfiebers, der Geflügelspirochätose hingewiesen. Neuerdings wurde die Reihe dieser im Wasser lebenden, mit pathogenen Organismen morphologisch übereinstimmenden Spirochäten erweitert, indem sich Gelegenheit bot, im Grundschlamm der Schussen, eines Moorwasser führenden Flusses, welcher

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei Langenargen in den Bodensee mündet, Spirochäten zu beobachten, deren Größe, Lichtbrechung, Windungsart und Weite, Färbbarkeit, kurz alle morphologischen Merkmale, vollständig mit Spirochaeta hebdomadis, dem Erreger des Siebentagefiebers, übereinstimmten. Spir. icterogenes und Spir. hebdomadis sind morphologisch nicht vollständig identisch. Spir. hebdomadis ist, wie wir feststellen konnten, stärker lichtbrechend, dicker und weiter, lockerer gewunden als Spir. icterogenes. (Näheres s. auch Zuelzer, Die Spirochäten in Trowiegch Hdb. d. path. Protozoen. III. p. 1759.)

Ebenso wie freilebende Saprophyten und pathogene Parasiten morphologisch übereinstimmen, ist dies auch bei parasitären Saprophyten der Fall. Beobachtungen an Mundspirochäten des Menschen zeigten, daß mit diesen morphologisch übereinstimmende Spirochäten sowohl im Wasser als auch im Kaninchendarm und Meerschweinchenblinddarm nicht selten zu finden sind. Es wurden im normalen menschlichen Munde Spir. buccalis inaequalis beobachtet, welche im Aussehen, in der Bewegung und Färbbarkeit mit solchen aus den Därmen der obengenannten Tiere übereinstimmen. Ferner finden sich im menschlichen Munde Spirochäten, welche durch ihre regelmäßigen Primär- und durch ihre ebenfalls ziemlich regelmäßigen Sekundärwindungen gekennzeichnet sind. Letztere bleiben, was bei Sekundärwindungen nicht häufig der Fall ist, bei den Bewegungen fast unverändert erhalten. Ebensolche Spirochäten sind im Meerschweinchenblinddarm zum Teil in großen Mengen anzutreffen. Auch die im menschlichen Munde sehr häufig und weit verbreitete Spir. dentium, und zwar deren feinere Art, welche als Spir. denticola von der eigentlichen Spir. dentium unterschieden wird, ist im Blinddarm von Meerschweinchen morphologisch, färberisch und in der Bewegung mit dieser Form vollständig übereinstimmend, häufig anzutreffen.

Spir. denticola ist in Windungsweite ihrer Primärspiralen, in Zartheit und gedrechseltem Aussehen pallida-artig, und wird deshalb auch vielfach als Treponema denticola bezeichnet. — Dieser Mikroorganismus zeigt häufig, anstatt der üblichen pallida-spirochätenartigen Bewegung, welche eine gleichmäßige schraubenförmige Drehbewegung der feinen Windungen des Spirochätenleibes um die Längsachse des Körpers ist, ganz typische icterogenes-artige Beweguhgen. Bei letzterer Bewegungsart biegt die Spirochäte an beiden Enden etwa $^1/_4$—$^1/_5$ ihres Körpers um und diese Enden schlagen oder rotieren selbständig und überaus beweglich (Kleiderbügelform). Die Spirochäten bewegen sich dann dadurch ganz in der Art, wie dies Spir. icterogenes zu tun pflegt. Diese Bewegungsart tritt besonders bei Uebertragung von Spir. denticola in andere Medien, z. B. in Kulturen, in Erscheinung, kann aber gelegentlich bei frisch aus dem Mund entnommenem Material beobachtet werden. Eine Dreiteilung des in regelmäßigen, steilen Primärspiralen gewundenen Körpers in ein gerades längeres Mittelteil und in kürzere umgebogene, lebhaft eigenbewegliche Enden ist jedoch nicht konstant, nicht präformiert, sondern kommt nur bei der Bewegung zustande, ist also nicht stabil, und daher z. B. auf gefärbten, fixierten Präparaten, im Gegensatz zu Spir. icterogenes selbst, nicht nachweisbar. Auf gefärbten Präparaten erscheinen die betreffenden Spirochäten vielmehr durchaus pallida-ähnlich. Im Leben ist die icterogenes-artig sich bewegende Spir. denticola leicht mit Spir. trimerodonta syn. Leptospira trimerodonta, zu verwechseln und sind lebhaft bewegliche Exemplare der beiden Spezies mit Sicherheit nur auseinanderzuhalten, wenn beide Formen gemeinsam im gleichen Material vorhanden sind, was nur gelegentlich der Fall ist. Es zeigt sich dann, daß die Primärwindungen von Spir. denticola etwas loser und tiefer, die von Spir. trimerodonta enger und steiler sind und einander berühren; immerhin sind beide Formen einander so ähnlich, daß hier ein neues Beispiel vorliegt, daß es wohl kaum möglich sein dürfte, eine sichere Entscheidung zu treffen, ob Spir. denticola als Treponema oder als Leptospira zu bezeichnen wäre. Demnach ist es nicht nur einfacher, sondern auch richtiger, die Genera Treponema und Leptospira als dem Genus Spirochaeta zugehörig bei diesem zu belassen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im Munde und auf den Genitalien gesunder Menschen sind ebenfalls Spirochäten nachgewiesen, welche morphologisch vollständig mit Spir. icterogenes, dem Erreger der Weilschen Krankheit, übereinstimmen. Da morphologische Uebereinstimmungen allein aber nicht ausreichen, die Identität der betreffenden Mikroorganismen zu beweisen, sind von uns Untersuchungen begonnen, um die biologischen Verwandtschaftsbeziehungen der im Munde lebenden icterogenes-artigen Spirochäten (Leptospira trimerodonta Hoffmann) mit dem Erreger der Weilschen Krankheit zu prüfen. Vielleicht ergeben sich ähnliche Beziehungen dieser auf menschlichen Schleimhäuten lebenden harmlosen Spirochäten zu der pathogenen Spir. icterogenes, wie Uhlenhuth und Zuelzer in früheren Untersuchungen solche zwischen den frei im Wasser lebenden Spir. icterogenes und pathogenen Spir. icterogenes haben nachweisen können, welche durch Mutation oder Adaption die Fähigkeit erwerben, sich vom harmlosen Saprophyten zu hochpathogenen Parasiten zu entwickeln.

Die im Wasser freilebenden Spirochäten sind stark-mesosaprobe Organismen; sie leben in organisch leicht verunreinigtem Wasser, wo bei der Zersetzung der Proteinkörper neben Ammoniak, Nitriten und Nitraten reichlich Schwefelwasserstoff entsteht, Verhältnisse, wie sie beispielsweise in den tieferen Schichten des organischen Filzes auf den Koksstücken in den Füllkörpern biologischer Kläranlagen oder an den Oeffnungen selten benutzter Hähne und Schläuche von Wasserleitungen vorhanden sind.

Die saprophytischen Spirochäten finden diesen Verhältnissen ähnliche, ihnen zusagende Lebensbedingungen offenbar in der Mundhöhle, auf den Schleimhäuten der Genitalien, im Darm, in sich zersetzenden Massen des Inhalts kariöser Zähne, auf nekrotischem Gewebe usw., wo denn auch, wie zu erwarten ist, überall mehr oder weniger reichlich immer wieder die gleichen Saprophyten vom Refringens-, Buccalis-, Icterogenes-, Pallida-, Recurrens- usw. Typus zu finden sind.

Aus dieser nachgewiesenen Ubiquität der saprophytischen Spirochäten zieht neuerdings Neumann Schlüsse, deren Voraussetzungen nicht dem festen Boden der beobachteten Tatsachen entstammen, sondern auf Spekulation zu basieren scheinen. Deshalb soll auf die Neumannschen Arbeiten hier kurz eingegangen werden.

Neumann will in zwei Fällen eine spontane Entstehung der Kaninchengenitalspirochätose beobachtet haben, und vertritt die Meinung, daß die angeblich gesunden, einzeln gehaltenen Tiere, welche die typischen Erscheinungen dieser Krankheit bei reichem Spirochätenbefund zeigten, durch frei im Dung oder Stallmist lebende, pallida-artige saprophytische Spirochäten infiziert worden sein müßten. Ueber die Vorgeschichte beider Tiere liegen keine eigenen Beobachtungen des Autors vor. Da von Genitalspirochätose-kranken Kaninchen festgestellt ist, daß auch bei anscheinend gesunden Tieren nach Skarifikation der Genitalien häufig Rezidive auftreten, ist bei der Beurteilung eines anscheinend spontanen Auftretens dieser Krankheit doppelte Vorsicht geboten. In den beiden angeführten Fällen ist es jedenfalls nicht bewiesen, daß es sich um eine frische Infektion und nicht vielmehr um ein Rezidiv handelt. Worms berichtet, daß er nach Beimpfung eines Kaninchens mit Spir. dentium vom Zahnhals eines nicht luetischen Mannes typische Erscheinungen der Genitalspirochätose bei den betreffenden Tieren beobachtet habe. Man wird Worms, der viel vorsichtigere Schlüsse zieht als Neumann,

Generated on 2019-09-15 11:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

wohl beipflichten, daß ein so vereinzelter Fall kein zwingender Beweis für die Pathogenität von Spir. dentium ist, und daraus mit Sicherheit nicht der Schluß gezogen werden kann, daß etwa die Zahnspirochäten tatsächlich die betreffenden pathologischen Veränderungen erzeugt haben.

Was nun das Virulentwerden von saprophytischen Spirochäten betrifft, so weist Neumann ausführlich auf Zuelzers frühere Befunde freilebender Spirochäten sowohl des pallida- als auch anderer pathogener Typen im Wasser hin, und sagt in Uebereinstimmung mit Lersey: „Falls wirklich von menschlicher Syphilis unabhängige Spirochäten vom pallida-Typ beim Kaninchen auftreten, so müßte man auf die saprophytischen Wasserspirochäten Zuelzers zurückgreifen, und das würde zu der Anschauung zwingen, daß der Uebergang derartiger Spirochäten vom saprophytischen zum parasitären Dasein relativ oft und daher leicht erfolgt."

In früheren Arbeiten wurde betont (Zuelzer), daß morphologische Uebereinstimmungen allein natürlich niemals ausreichen, die Identität von Mikroorganismen zu beweisen; erst der Nachweis auch biologischer Uebereinstimmung ist ausschlaggebend, besonders weil ja einerseits Spir. pallida ebenso wie auch die anderen Spirochäten nicht nur einen starren Erscheinungstyp darstellen, sondern sich, zum Teil hervorgerufen durch Adaptionen das Nährmedium, durch eine außerordentliche morphologische Variabilität mit Bildung aller erdenklichen Uebergänge, auszeichnen. Andererseits ist z. B., gerade vom Erreger der Genitalspirochätose des Kaninchens, von Spir. pallida var. cuniculi, bekannt, daß diese Spirochäte morphologisch zwar dem Erreger der menschlichen Syphilis sehr ähnlich ist, sich aber von dieser Spirochäte durch ihre biologischen Eigenschaften, die Art der durch sie verursachten pathologisch - anatomischen Veränderungen sowie durch die meist oberflächlich bleibenden klinischen Erscheinungen und nach Kolle auch ihrem Verhalten gegen chemotherapeutische Mittel von Spirochaeta pallida scharf abtrennen läßt.

Bei der Prüfung der Identität der avirulenten Spir. icterogenes aus dem Wasser mit dem hochpathogenen Menschenstamm wurden experimentell die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen diesen morphologisch übereinstimmenden Spirochäten geprüft und der Nachweis geführt, daß die verschiedenen Wasserstämme untereinander, trotz morphologischer Uebereinstimmung, nicht unerhebliche Unterschiede aufweisen, welche serologisch nachzuweisen sind. Je nach dem Medium, d. h. den Ernährungsbedingungen, in denen sich die Stämme befinden, können sie auch morphologisch wohl schon nach Tagen variieren, und diese Veränderungen sind konstant, d. h. die Spirochäten sind in der Maus am zartesten, werden in Eselserum am längsten usw. Dagegen ist es nicht, wie Neumann angibt, gelungen, auch biologisch in wenigen Tagen die betreffenden Spirochäten durch Serumzusatz zu beträchtlichen Variationen zu bringen; im Gegenteil! Bei den Versuchen, die im Wasser frei lebenden Organismen von ihrem Leben im Wasser an tierisches Eiweiß, Serumnährböden, zu gewöhnen und beim Studium, welchen Einfluß das tierische Eiweiß auf diese Spirochäten habe, zeigte es sich, daß erst nach etwa $1^1/_4$ Jahren ein Stamm für Meerschweinchen pathogen geworden war; die anderen 5 beobachteten Stämme, welche kürzer in Serumkulturen gehalten worden waren, waren bis dahin noch nicht pathogen; auch zeigten sie untereinander weitgehende Unterschiede, wobei die Dauer der Gewöhnung an das tierische Eiweiß eine Rolle

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

spielt. Einer der Stämme war nach 8-wöchentlicher Gewöhnung an tierisches Eiweiß durch die Sera, welche von an Kaninchenserum gewöhnten Spirochäten gewonnen worden waren, wie auch durch Serum des pathogenen Menschenstammes noch fast gar nicht beeinflußbar; erst nach einem $^3/_4$-jähr. Leben im Serum lieferten 2 Wasserstämme ein vor der Weilschen Krankheit schützendes Serum, und 3 andere Stämme lieferten auch nach dieser Zeit nicht nur kein schützendes Serum, sondern waren überhaupt nur in starken Serumkonzentrationen zu beeinflussen. Nach diesen Versuchen ist zwar der Einfluß des Mediums auf die biologischen Eigenschaften eines Mikroorganismus unverkennbar, es sollte aber nicht unterschätzt werden, daß eine solche Gewöhnung und Anpassung nicht, wie Neumann annimmt, „in wenigen Tagen, vielleicht auch nur Stunden" vor sich geht. Zum Mindesten ist das bisher noch nicht bewiesen. Wohl alle Spirochäten neigen zur Rassenbildung. Jedoch gehen Mutationen der Spirochäten, wie die positiven Beobachtungen gezeigt haben, jedenfalls nicht so schnell und keinesfalls so häufig vor sich, daß Neumann berechtigt wäre, die oben erwähnten Fälle der Genitalspirochätose, mangels sicherer Kenntnis, wie und wo die betreffende Infektion erfolgt ist, durch Virulentwerden freilebender Spirochäten zu erklären. — Die Art der Entstehungswege spirochätenhaltiger Veränderungen ist vielfach noch unklar. Wahrscheinlich gehört dazu das Zusammentreffen zweier Bedingungen: nämlich nicht nur das Vorhandensein einer anpassungsfähigen Spirochätenrasse, sondern auch daß diese in einen, in einem bestimmten Zustande wohl von herabgesetzter Widerstandskraft sich befindenden Organismus eindringt. Daß dieser Vorgang zwar möglich ist, jedoch keinesfalls immer sehr leicht und einfach vor sich geht, haben die ausgedehnten Versuche mit den sehr variablen Icterogenes-Stämmen gezeigt.

Neumann dagegen glaubt, daß nicht nur alle möglichen Spirochäten aus der Außenwelt in Warmblüter einzuwandern vermögen, sondern daß sie dort auch sofort spezifische Erscheinungen hervorbringen können. Zur Stützung seiner Annahme berichtet er, daß er „Spirochäten vom Pallida-Typus in frisch gesetzten „banalen Wunden" an den Genitalien der Kaninchen, welche künstlich offen gehalten wurden", gefunden habe, und schließt daraus, daß frei in der Außenwelt, offenbar pathogene Spirochäten des Pallida-Types leben, welche sich im Kaninchen ansiedeln können. Neumann glaubt, daß bei der oben erwähnten Infektion die betreffenden Organismus aus dem Stallmist eingewandert seien. — Das ist möglich; ebenso gut ist es aber auch möglich, daß dieselben aus dem Darminhalt des Tieres selbst stammen; vielleicht auch aus der normalen Vagina. Es handelt sich dabei aber nicht um an sich pathogene Organismen, sondern um Saprophyten, deren ziemlich regelmäßiges und reichliches Vorkommen, wie oben angeführt wurde, ja in sich zersetzenden Se- und Exkreten bekannt ist. Spezifische Wirkungen auf die Gewebe und eine spezifische Pathogenität kommt diesen Saprophyten indessen ohne Weiteres nicht zu.

Ebensowenig ist die Neumannsche Annahme berechtigt, wenn nach Verimpfung auf Kaninchen von Blut, Sperma und Milch kranker und angeblich gesunder Menschen, in welchen mikroskopisch keine Spirochäten nachweisbar waren, spirochätenreiche Impfeffekte bei diesen Tieren erzeugt werden konnten, wie dies Uhlenhuth und Mulzer gezeigt hatten, daraus zu schließen, daß die in den Versuchstieren nachgewiesenen Spirochäten sich spontan aus der Außenwelt in den Wunden

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

angesiedelt hätten. Vielmehr dürfte der Schluß berechtigt sein, daß in dem Impfmaterial Spirochäten vorhanden waren, aber in so spärlicher Anzahl, daß der direkte mikroskopische Nachweis nur aus technischen Gründen nicht gelingt. In solchen Fällen ist das Experiment, durch Verimpfung auf Versuchstiere die eingebrachten spärlichen Spirochäten anzureichern, das Gegebene.

Die Befunde von Uhlenhuth und Mulzer u. A. werden durch die Einwände von Neumann in keiner Weise erschüttert, denn diese Versuche erbringen tatsächlich den Nachweis, daß die schweren syphilitischen Erscheinungen, die nach Beimpfung von Blut, Milch, Sperma etc. bei den Kaninchen auftraten, auf die Anwesenheit von Spir. pallida im Impfmaterial zurückzuführen sind.

In derselben Weise wird z. B. bei Weilscher Krankheit der Spirochätennachweis geführt. In den ersten Tagen der menschlichen Erkrankung zirkulieren die Spirochäten im peripheren Blute; sie sind jedoch dort direkt mikroskopisch kaum nachweisbar, wohl aber gelingt dies durch Verimpfung des peripheren Blutes auf Meerschweinchen. Es wäre hier doch gewiß ebenfalls nicht berechtigt, zu behaupten, die Meerschweinchen hätten sich aus der Außenwelt mit den sehr weit verbreiteten saprophytischen Spir. icterogenes infiziert, statt den logischen Schluß zu ziehen, daß in dem verimpften Blute Spirochäten vorhanden gewesen sein müßten, welche sich im Versuchstiere angereichert haben. Auch ist dabei in Betracht zu ziehen, daß sowohl diese Befunde, als die oben mit Blut, Milch und Sperma mit Spirochaeta pallida gemachten, in einem hohen Prozentsatze regelmäßig erreicht werden und die pathogene Natur der Spirochäten durch deren biologisches Verhalten bei Weiterimpfungen erbracht worden ist, während bei den Neumannschen Befunden nur das Vorkommen morphologisch übereinstimmender Spirochäten vorliegt.

Die Annahme Neumanns, daß in den von ihm mitgeteilten Fällen pathogene Spirochäten von außen in die Wunden eingewandert seien, ist daher, auf Grund der von ihm vorgebrachten Beobachtungen, keineswegs sichergestellt; der Beweis, daß es sich um pathogene Mikroorganismen gehandelt hat, fehlt. Es besteht hier ein erheblicher Gegensatz zu den von Uhlenhuth und Zuelzer und von Zuelzer mitgeteilten Befunden, bei denen durch lange systematische Untersuchungen sowie durch genaue serologische und biologische Experimente die Identität des ursprünglich saprophytisch avirulenten Wasserstammes mit dem pathogenen parasitären Menschenstamm sichergestellt werden konnte.

Literatur.

Neumann, Franz, Klin. Wochenschr. Jahrg. 2. Nr. 6. — Ders., Centralbl. f. Bakt. Bd. 90. 1923. H. 2. — Uhlenhuth u. Mulzer, Arb. a. d. Reichsgesundheitsa. Bd. 33. 1910. — Ders. u. Zuelzer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. Beih. S. 1441. — Dies., Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 43. S. 2124. — Worms, W., Klin. Wochenschr. Jahrg. 2. 1923. S. 836. — Zuelzer, Margarete, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. S. 154. — Dies., ebenda. Bd. 89. 1922. Heft 1/3.

Tafelerklärung.

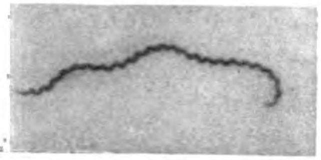
Fig. 1. Spirochaeta hebdomadis Menschenstamm aus Serumwasserkultur Osmiumdampf Giemsa. Vergr. ca. 2350.

Fig. 2. Spirochaeta hebdomadis Menschenstamm aus Serumwasserkultur Osmiumdampf Giemsa. Vergr. ca. 2350.

Fig. 3. Spirochaeta pseudohebdomadis aus Wasser (Schussenschlamm) Osmiumdampf Giemsa. Vergr. 2350.

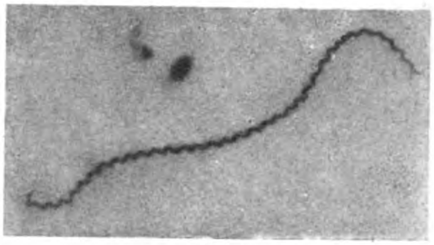
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zuelzer u. Oba, Saprophytische Spirochäten.

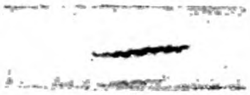


1

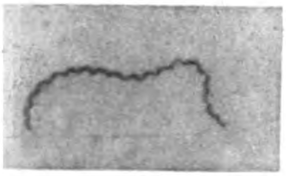
2



3



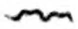
6



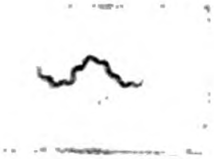
4

5

7



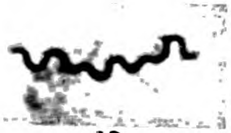
8



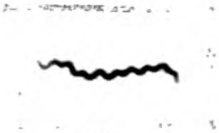
9

10

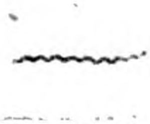
11



12



13



14

Zuelzer phot.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Fig. 4. Spirochaeta pseudohebdomadis aus Wasser (Schussenschlamm) Osmiumdampf Giemsa. Vergr. 2350.

Fig. 5. Spirochaeta buccalis inaequalis und Spirochaeta denticola aus menschlichem Munde. Osmiumdampf Giemsa. Vergr. 2350. Original.

Fig. 6. Denticola-artige Spirochaeta aus dem Blinddarm des Meerschweinchens. Osmiumdampf Giemsa. Vergr. 2350. Original.

Fig. 7. Spirochaeta mit regelmäßigen Primär- und ziemlich regelmäßigen Sekundärwindungen aus dem menschlichen Munde. Osmiumdampf Giemsa. Vergr. 2350. Original.

Fig. 8. Spirochaeta mit regelmäßigen Primär- und ziemlich regelmäßigen Sekundärwindungen aus dem Blinddarm des Meerschweinchens. Osmiumdampf Loeffler. Vergr. 2350.

Fig. 9. Spirochaeta aus dem Meerschweinchendarm mit flachen Primär- und tiefen Sekundärwindungen. Osmiumdampf Loeffler. Vergr. 2350. Original.

Fig. 10. Spirochaeta mit flachen Primär- und tiefen Sekundärwindungen aus dem Wasser (Fischteich Blankenburg). Osmiumdampf Loeffler. Vergr. 2350.

Fig. 11. Recurrens-artige Spirochaeta aus dem Meerschweinchenblinddarm. Osmiumdampf Loeffler. Vergr. 2350.

Fig. 12. Recurrens-artige Spirochaeta aus dem Wasser (Fischteich Blankenburg). Osmiumdampf Loeffler. Vergr. 2350.

Fig. 13. Pallida-artige Spirochaeta aus dem Meerschweinchenblinddarm. Osmiumdampf Loeffler. Vergr. 2350.

Fig. 14. Pallida-artige Spirochaeta aus dem Wasser (Absatzbecken Werden). Osmiumdampf Giemsa. Vergr. 2350.

Nachdruck verboten.

Ueber einen eigenartigen Ruhrerreger.

Von Dr. med. **Tadahide Seki** aus Osaka (Japan).

Gelegentlich meines Aufenthaltes in Deutschland habe ich erfahren, daß atypische Ruhrbazillen und selbst Bakterien, die im Gegensatz zu den echten Ruhrbazillen aus Traubenzucker Gas bilden, als Erreger von Dysenterie beschrieben worden sind. Das veranlaßt mich, eine Untersuchung ganz kurz mitzuteilen, die ich 1913 in Japan ausgeführt habe, und in der ich gleichfalls einen eigenartigen, von dem gewöhnlichen Dysenteriestamm abweichenden Bakterienstamm als Erreger einer kleinen Ruhrepidemie gefunden habe.

Es handelte sich um 12 Kranke, die im Oktober 1913 ins städtische Krankenhaus Wakajama mit den typischen Erscheinungen der Ruhr eingeliefert wurden. 6 waren sehr schwer erkrankt (darunter 3 Todesfälle), von den übrigen waren 3 mittelschwer und 3 leicht erkrankt; sie genasen sämtlich. Aus den Ausleerungen dieser Kranken wurde in 7 Fällen der gleich zu beschreibende Bazillus isoliert, während er in den anderen 5 Fällen nicht nachgewiesen wurde. In keinem der untersuchten Stuhlgänge fanden sich Dysenteriebazillen anderer Art, oder sonstige Erreger von Darmkrankheiten. Daß der Stamm ursächlich mit der Erkrankung in Zusammenhang stand, ergab sich aus der Serumreaktion der Patienten, die, soweit sie untersucht werden konnten, durchgehends eine Agglutination mit ihm aufwiesen in einer Höhe bis zu 1 : 60, während keiner der anderen Dysenteriestämme agglutiniert wurde.

Es handelt sich um ein lebhaft bewegliches Stäbchen, das kulturell Paratyphus B-Bazillen sehr nahesteht, insbesondere in seinem Verhalten in Lackmusmolke, den Barsiekowschen Nährböden, in Traubenzucker-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

agar, auf Endo-Platte usw. ihnen völlig gleicht. In Bouillon und Peptonwasser bildet es jedoch Indol. Der Stamm erwies sich als hochgradig pathogen für Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse bei parenteraler Einverleibung. Bei Kaninchen wurden bei etwas protrahiertem Verlauf Durchfälle beobachtet. Aus Blut oder Fäzes der gestorbenen Tiere konnte der Keim wieder isoliert werden. Verfütterung an weiße Mäuse führte nicht zur Erkrankung. Für Tauben ist die Pathogenität bedeutend geringer (intramuskuläre Injektion). Agglutinatorisch verhält sich der Stamm durchaus eigenartig. Er wird von anderen Seris kaum beeinflußt. Sein eigenes Serum agglutiniert ihn stark, gibt dagegen mit anderen Bakterien der Dysenteriegruppe nur unbedeutende Gruppenreaktion. Mit Filtraten von Bouillonkulturen läßt sich eine spezifische Präzipitation und Komplementbindungsreaktion erzielen. Auch die Bestimmung des osponischen Index zeigte spezifische Steigerung im Immunserum.

Nachdruck verboten.

Zur Serodiagnostik des Echinokokkus.

Von Dr. **Marcus Rabinowitsch,** Charkow,
Professor der Bakteriologie an der Medizinischen Hochschule zu Charkow.

Die frühzeitige zuverlässige Diagnose des Echinokokkus ist von größter Bedeutung, weil 1) beim Fortschreiten des Krankheitsprozesses das betreffende Organ immer mehr zerstört, der Erfolg des chirurgischen Eingriffes und dadurch die Prognose verschlimmert, 2) durch die frühzeitige Diagnose und den sofortigen chirurgischen Eingriff die Möglichkeit der Perforation in die benachbarten Organe und des Berstens der Echinokokkusblase und die dadurch bedingten schweren Komplikationen oder die Dissimination des Parasiten, die ich auch zu beobachten Gelegenheit hatte, verhindert werden.

Wie häufig der Echinokokkus die benachbarten Organe perforieren und bersten kann, ist aus der älteren, auf vielen Hunderten von Fällen fußenden Statistik von Madelung, Davain und Neisser ersichtlich.

Madelung berichtet, daß von 154 Fällen von Echinokokkus der Bauchhöhle in 39 (25 Proz.) das Bersten des Parasiten konstatiert wurde. Nach Davain ist von 81 geborstenen Echinokokken in 32 Fällen (40 Proz.) eine Perforation in die Lungen, in 10 (12 Proz.) in die Bauchhöhle, in 21 (25 Proz.) in den Magen-Darmtraktus beobachtet worden. Nach Neissers, auf 986 Fälle sich beziehenden Statistik kommt Perforation in die Lungen in 43 Proz., in den Magen-Darmtraktus in 26 Proz., in die Bauchhöhle in 18 Proz. der Fälle vor.

Außerdem sind Perforationen in die Gallengänge, in den Herzbeutel, in die großen Blutgefäße (V. porta und V. hepatica), in die Harnwege wie auch gleichzeitig in 2 verschiedene Organe beobachtet worden.

In neuester Zeit hat Magnussen unter 214 von ihm beobachteten Echinokokkenkranken in ca. 20 Proz. der Fälle Perforationen verzeichnet.

Es ist deshalb das Bestreben zahlreicher Autoren begreiflich, die verschiedenen diagnostischen Methoden zur Diagnose des Echinokokkus zu verwerten:

Schon 1899 hat Sabrazès seine Aufmerksamkeit auf den Blutbefund gelenkt und eine Vermehrung der eosinophilen Leukozyten bei Echinokokkuskranken konstatieren können. Seine Beobachtung wurde kurz darauf von einer ganzen Reihe

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Autoren bestätigt und hat allgemeines Aufsehen erregt, und zwar um so mehr, als die Zahl der eosinophilen Leukozyten, die bei verschiedenen Echinokokkuskranken wahrgenommen wurden, zwischen 10 und 68 Proz. sich bewegte.

Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß die Zahl der eosinophilen Leukozyten beim Echinokokkuskranken, wie Welsh und Barling, Weinberg und Leger, Wagner und viele andere nachweisen konnten, nach dem Bersten der Echinokokkusblase stark steigt, so z. B. im Falle Wagners von 3,5 auf 64 Proz. Bald zeigten aber weitere Untersuchungen, daß die Eosinophilie nicht konstant beim Echinokokkuskranken vorkommt und in vielen Fällen ganz fehlen kann.

Weiter wurde der diagnostische Wert der Eosinophilie für die Feststellung einer Echinokokkuserkrankung dadurch beeinträchtigt, daß auch bei einer großen Reihe anderweitiger Krankheiten eine Vermehrung der eosinophilen Leukozyten konstatiert wurde. Eine Vermehrung derselben wurde, von Asthma bronchialis abgesehen, bei mit Trichinen, Bandwürmern, Ascariden, Trichocephalus dispar und Oxyuris vermicularis Infizierten nachgewiesen. Auch bei Filaria-, Malaria- und Dysenteriekranken (Amöbendysenterie), wie auch bei Scharlach- und anderen Infektionskrankheiten, bei verschiedenen Neubildungen und einer ganzen Reihe von Hauterkrankungen ist die Eosinophilie ein sehr häufiger Befund. Die Eosinophilie wird ferner bei Frauen während der Menstruationen, der Schwangerschaft und des Stillens sowie bei Kindern auch ohne nachweisbare Ursachen beobachtet, so daß man daraus schließen muß, daß dem Vorhandensein oder Fehlen derselben ein besonders zuverlässiger diagnostischer Wert für den Echinokokkus nicht beigemessen werden kann.

Ausdrücklich ist aber hervorzuheben, daß das Vorkommen der Eosinophilie beim Kranken doch den Verdacht auf Echinokokkus wecken und zur Anwendung anderweitiger diagnostischer Hilfsmittel Veranlassung geben muß, da dieselbe, wenn auch, wie weiter unten nachgewiesen wird, zwar keine konstante, aber doch eine ziemlich häufige Begleiterscheinung des Echinokokkus darstellt.

Dasselbe gilt auch für die Präzipitation, die zuerst von Fleig und Lisbonn zur Diagnose des Echinokokkus beim Menschen angewendet worden ist, zu sagen.

Während Welsh und Chapman, Martin, Boutemps u. a. ermutigende Ergebnisse mit der Präzipitation erhalten haben, konnten Apáthy und Lorenz, Bettencourt, Puntoni, Weinberg, Putzu, Israel u. v. a. der Präzipitation keinen besonderen Wert für die Diagnose des Echinokokkus beimessen.

Langer, Puntoni u. a. beobachteten positive Präzipitation im Serum von Bandwurmträgern mit Echinokokkenantigen. Die meisten Autoren heben aber ausdrücklich hervor, daß ein und dasselbe Serum mit verschiedenen Antigenen voneinander ganz abweichende Ergebnisse liefern kann, und Welsh, Chapman und Storey haben vorgeschlagen, die Präzipitation mit mehreren Antigenen am besten mit solchen, die vorher mit Seris von Echinokokkenkranken geprüft worden sind, anzustellen.

Weniger Beachtung, weil nicht zuverlässig, fand die antitryptische Reaktion von Weinberg und die Meiostagminreaktion von Ascoli.

Die größte Aufmerksamkeit der Forscher erweckte, weil am zuverlässigsten, die zuerst von Ghedini angewandte und nachher hauptsächlich von Weinberg und seinen Mitarbeitern in die Praxis eingeführte Komplementbindungsreaktion.

Ein Blick in die reiche, auf die Komplementbindungsreaktion beim Echinococcus sich beziehende Literatur führt zur Ueberzeugung, daß die meisten Autoren in der Mehrzahl der Fälle mit dieser Reaktion ganz zuverlässige Ergebnisse erhalten haben, und daß die falschen Resultate auf mangelhafte Technik oder auf die Art der benutzten Antigene zurückgeführt werden müssen.

Wie bei der Wassermannschen Reaktion, muß auch bei jeder Komplementbindungsreaktion das Komplement, von dem hauptsächlich das Ergebnis des Versuches abhängt, jedesmal vor dem Versuche genau austitriert und in entsprechender Menge zum Versuche benutzt werden. Immer muß die Titration des Komplementes per se mit der entsprechenden Menge des hämolytischen Systems, dann auch mit den benutzbaren Antigenen, und endlich mit den entsprechenden Seris austitriert werden, weil die Komplemente beim Zusammenwirken mit den Seris in ihrer Wirksamkeit verstärkt oder abgeschwächt werden, und deshalb zum Versuch in entsprechend kleineren oder größeren Mengen benutzt werden müssen.

Beim Studium der mitgeteilten Untersuchungen über die Komplementbindung der Sera von Echinokokkuskranken kann man sich aber davon überzeugen, daß in den meisten derselben eine konstante Komplementmenge, meist 0,1 ccm, von einigen Autoren 0,05 ccm, benutzt worden ist. Bedenkt man aber, daß von einigen Komplementen 0,01 ccm ausreicht, so findet die große Zahl der negativen Fälle bei einigen Autoren ihre teilweise Erklärung in der benutzten großen Menge des Komplementes.

Aus denselben Erwägungen müssen sämtliche Modifikationen der Versuchstechnik, bei denen das Normalkomplement, der Normalambozeptor oder gleichzeitig beide, in

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

sehr wechselnder Menge im Serum vorhandene Komponenten benutzt werden, ganz weggelassen werden.

Die Unzuverlässigkeit dieser Modifikationen beweisen am besten die Versuche Weinbergs (Annal. Pasteur. 1909. p. 424). Dieser verdienstvolle Forscher, der sich am meisten mit der Serodiagnostik des Echinokokkus beschäftigt hat, schlug eine schnelle und eine langsame Methode vor, mit denen zuerst der hämolytische Index des Serums bestimmt und nachher der Versuch mit frischem Serum ohne Komplement und ohne Ambozeptor bzw. mit inaktiviertem Serum ohne Ambozeptor angestellt wird. Der Zweck dieser Methodik war, das normal in jedem Serum vorhandene Komplement und den Ambozeptor auszuschalten und dadurch die Reaktion empfindlicher zu machen.

Daß aber diese Voraussetzung Weinbergs nicht zutreffend war, ergibt seine folgende Aeußerung: „Es gibt in der Tat frische Sera mit hohem Index, aber arm an Alexin . . .“ „Nach unserer Statistik kann beim Erwärmen auf 56° der Verlust an Ambozeptoren 80 Proz. erreichen“ (l. c. p. 438—39).

Gibt aber der „Index“ keine Vorstellung von der Menge des im Serum vorhandenen Komplements, so kann auf eine derartige Methodik nicht die Komplementbindungsreaktion begründet werden. Gehen weiter durch die Inaktivierung nach Weinbergs eigener Statistik bis 80 Proz. des Ambozeptors vom Serum verloren, so muß vorläufig ausschließlich die originelle Methodik von Bordet-Gengou als die zuverlässigste betrachtet werden.

Wie undeutlich die Ergebnisse der Weinbergschen Versuche sind, folgt schon daraus, daß beinahe der ganze, 16 Seiten große zitierte Aufsatz der Deutung dieser Ergebnisse gewidmet ist, um endlich zum Schlusse zu kommen, daß weder die schnelle noch die langsame Methode zuverlässig ist.

Was endlich die Antigene anbelangt, die von verschiedenen Autoren beim Komplementbindungsversuche zur Diagnose des Echinococcus benutzt wurden, so waren diese ihrer Herkunft und Bereitungsart nach so verschieden, daß unzweifelhaft darin eine neue, sehr wichtige Fehlerquelle zu suchen ist.

Den ersten Angaben von Ghedini entsprechend, haben die meisten Autoren die Hydatidenflüssigkeit als Antigen benutzt. Während aber Weinberg, Putzu, Eckstein, Abrikosow u. a. darauf hingewiesen haben, daß diese Flüssigkeit vom Menschen auch mit normalen Seris Komplementbindung gibt, was die vom Schafe nicht tat, haben Braunstein, Kreuter, Durand, Barsony und Egan u. a. dem nicht beipflichten können. Kreuter fand auch bei der Hydatidenflüssigkeit vom Schafe Versager. Dagegen haben Vas, Barsony und Egan, Abrikosow, Silber und Chmelnizky u. a. mit gutem Resultat Hydatidenflüssigkeit vom Rinde benutzt. Während aber Vas seine Ergebnisse bei Verwendung von sensibilisierten Rinderblutkörperchen erhalten hat, haben die anderen Autoren Hammelblutkörperchen bei ihren Versuchen benutzt.

Putzu bekam mit der Hydatidenflüssigkeit vom Rinde auch positive Reaktion bei Echinococcus-freien Individuen. Kitzler erreichte mit der Hydatidenflüssigkeit vom Schweine keine Komplementbindung, wogegen Grätz mit diesem Antigen gute Resultate erhielt.

Außer der Hydatidenflüssigkeit sind verschiedenartige Extrakte aus derselben wie auch aus der Cystenwand des Echinococcus vom Menschen und verschiedenen Tieren als Antigen benutzt worden. Weinberg hat die Hydatidenflüssigkeit im Exsikkator verdampft und die aus dem trockenen Rückstande hergestellte Lösung in destilliertem Wasser mit gutem Erfolge als Antigen benutzt. Parvu extrahierte die Hydatidenflüssigkeit mit Alkohol (1:5), dampfte den Extrakt bei 60° ab und löste den Rückstand in Kochsalzlösung. Dieses alkohol-wässerige Antigen erwies sich als spezifisch. Kreuter hat aus der Hydatidenflüssigkeit im Vakuum einen honigartigen Rückstand gewonnen, denselben mit Alkohol extrahiert und mit diesem alkoholischen Extrakt gute Ergebnisse erzielt. Israel bekam solche mit dem alkoholischen Extrakt aus dem wässerigen Rückstande der Zystenwand. Kreuter erhielt auch durch Auszug mit Alkohol aus der tierischen Zystenwand ein brauchbares Antigen, während die wässerigen Extrakte sich als unwirksam erwiesen; dagegen haben Hahn und Henius die wässerigen Extrakte als brauchbar festgestellt. Stenza und Jianu haben einen äther-wässerigen Extrakt aus der Hydatidenflüssigkeit bzw. aus der Zystenwand, Falcoiano den ätherischen Auszug mit gutem Erfolg benutzt.

Nachprüfung der alkoholischen Extrakte ergab aber in den Versuchen von Vas, Bauer, Busson, Israel und mehreren anderen, daß diese auch mit normalen, luetischen und leprösen Seris Komplementbindung geben, was auch Kreuter zugegeben hat, der aber darauf hinweist, daß diese Fehlerquelle durch Benutzung kleiner Antigenmengen vermieden werden kann.

Endlich ist noch zu erwähnen, daß Kurt Meyer mit alkoholischem Extrakt aus Bandwürmern und Serum von Echinococcus-Kranken, wie auch mit Hydatidenflüssigkeit, wässerigen und alkoholischen Extrakten aus der Echinokokkuszystenwand

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

und mit Seren von Taenia-Trägern in 3 von 10 Fällen die Komplementbindungsreaktion erhalten hat, die er „Gruppenreaktion" nannte. Die Beobachtungen Meyers wurden von Hahn, Barsony und Egan, Kreuter in einigen Fällen bestätigt, wogegen Sonntag, Thomsen und Magnussen keine „Gruppenreaktion" nachweisen konnten.

Diese widersprechenden Angaben sind, wie die sorgfältigen Untersuchungen von Thomsen und Magnussen, bei denen eine genaue Titration des Komplementes den Versuchen vorausgeschickt wurde, lehren, auf mangelhafte Technik zurückzuführen.

Eine derartige Titration des Komplementes war um so mehr notwendig, als die erwähnten Autoren bei den „Gruppenreaktionen" große Mengen (0,3—0,6 ccm) von verschiedenartigen, größtenteils alkoholischen Antigenen benutzt haben, die, wie Vas, Bauer, Israel u. a. nachgewiesen haben, unspezifische Komplementbindung geben. Aus den Mitteilungen dieser Autoren ist auch zu entnehmen, daß sie außer der „Gruppenreaktion" auch unspezifische Reaktionen mit Normalseris (Kreuter), Luesseris (Hahn, Barsony und Egan), und in Fällen von Ikterus, Pankreatitis, Arteriosklerosis (Barsony und Egan) erhalten haben.

Zieht man endlich in Betracht, daß einige Autoren mit „aktiven", die anderen mit „inaktivierten" Seris gearbeitet haben, und daß Alkohol per se in Mengen von 0,3—0,5 ccm schädigend die Komplementwirkung beeinflußt, so wird es klar, daß die angeführten widersprechenden Angaben hauptsächlich auf die Verschiedenheit der angewandten Technik zurückzuführen ist.

Die Berechtigung dieser Erwägungen erwiesen die an der Hand eigener, mit den Seris von 57, nachträglich operierten, Fällen ausgeführten Untersuchungen.

Diese systematischen Untersuchungen begann ich erst, als es mir gelungen war, ein sehr empfindliches spezifisches Antigen herzustellen, denn die zahlreichen vorausgegangenen Untersuchungen hatten gelehrt, daß die Hydatidenflüssigkeiten vom Menschen, Schaf, Rind und Schwein nicht nur je nach ihrer Herkunft, sondern auch je nach dem Falle in ihren antigenen Eigenschaften verschieden sind, und selbst ein und dieselbe Flüssigkeit mit den verschiedenen Krankenseren verschieden reagierte.

Bevor ich zur Schilderung der Ergebnisse dieser Untersuchungen übergehe, will ich die benutzte Technik, auf die es ja hauptsächlich ankommt, genau schildern:

Antigen. Als solches wurde der wässerige Auszug aus der Echinokokkuszystenwand und Zystenflüssigkeit benutzt. Eine bei der Operation steril entnommene, mit klarer Flüssigkeit gefüllte, große Echinokokkusblase wurde in einem sterilen Glasbecher nach dem Laboratorium gebracht. Aus der Blase wurde die Flüssigkeit in 2 Erlenmeyersche Kolben aufgefangen und in dieselben die mit steriler Schere zerkleinerte Zystenwand gebracht. Der Flüssigkeit wurde dann soviel steriler 0,85-proz. Kochsalzlösung zugefügt, bis die Zystenwandstückchen von der Flüssigkeit ganz bedeckt waren, worauf endlich 0,5 Proz. der Flüssigkeitsmenge Phenol hinzugesetzt wurde. Die Kolben wurden ca. 2 Mon. im Eisschrank, dann 2 Tage bei Zimmertemp. und endlich 7 Tage im Thermostat bei 37° C gelassen und dann aus letzterem die Kolben in den elektrischen Schüttelapparat gebracht, 3mal 24 Std. in demselben geschüttelt und dann durch Fließpapier filtriert. Bei der Titration dieses Antigens haben 0,05 ccm das Komplement per se und mit Normalserum teilweise, mit Luesserum stark gebunden. 0,04 ccm band nur mit Luesserum teilweise das Komplement und nur in der Menge von 0,03 wurde weder mit Normal- noch mit Luesserum, sondern nur mit Echinokokkenserum das Komplement gebunden, weshalb es zum Versuch in Mengen von 0,03, 0,02 und 0,01 benutzt wurde.

Von 3 anderen, später in ähnlicher Weise hergestellten Antigenen aus durch Operation erhaltenen Echinokokkenzysten des Menschen war nur 1 brauchbar, während die übrigen 2 mit den Seris von Echinokokkuskranken keine spezifische Komplementbindung gegeben haben.

Worauf diese Unterschiede in den antigenen Eigenschaften der Extrakte aus den Echinokokkenzysten zurückzuführen sind, konnte ich nicht entscheiden. Die Antigene haben bei Aufbewahrung im Eisschrank im Laufe von 5 Jahren ihre Wirksamkeit erhalten.

Krankenserum wurde in aktivem und inaktiviertem (30 Min. bei 55° erwärmten) Zustande in Mengen von 0,1, 0,05 und 0,02 ccm (auf 2,5 der Gesamtmenge) zum Versuch

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle 1.

Laufende Nr.	Alter der Kranken (Jahre)	Ghedini-Weinberg-sche Reaktion mit aktivem Serum	Ghedini-Weinberg-sche Reaktion mit inaktiv. Serum	Wassermannsche Reaktion	Eosinoph. Leukozyt. (Proz.)	Befund bei der Operation
1	7	++[1]	+	—	7	Echinococcus hepatis
2	19	+	++	—	4	" renis
3	51	—	+	—	11	" hepatis et omenti majoris
4	42	+	+	—	3	" "
5	35	+	++	—	10	" "
6	51	++	+	—	1	" "
7	9	++	++	—	4	" "
8	40	++	+	—	3	" "
9	30	++	++	—	9	" "
10	13	+	+	—	14	" "
11	25	++	+	—	5	" "
12	27	+	+	—	1	" "
13	23	++	+	—	2	" pulmonis
14	31	++	—	—	2	" hepatis
15	37	+	+	—	6	" "
16	23	++	++	—	4	" "
17	44	++	+	—	10	" " et cerebri (†)
18	25	++	++	—	15	" " et abdominis disseminat.
19	35	+	++	—	3	" "
20	33	++	++	—	3	" "
21	28	+	++	—	8	" "
22	36	++	++	—	3	" "
23	45	++	⊕	—	26	" "
24	25	+	+	—	1	" "
25	40	++	++	—	2	" "
26	27	++	++	+	3	" " et lues
27	55	++	++	—	4	" "
28	31	+	++	—	6	" "
29	34	+	+	—	1	" pulmonis
30	27	++	++	—	12	" subdiaphragmatis
31	31	++	++	—	4	" hepatis
32	41	++	++	—	52	" "
33	55	++	+	—	2	" "
34	21	+	+	—	28	" lienis
35	40	++	+	—	3	" "
36	37	++	⊕	—	1	" "
37	27	++	++	—	3	" "
38	29	+	+	—	10	" "
39	23	++	++	—	1	" "
40	43	—	—	—	7	Carcinoma hepatis
41	45	⊕	—	—	3	" "
42	60	—	—	—	15	" "
43	39	⊕	—	—	6	" "
44	49	+	—	⊕	6	" " et ventriculi
45	32	—	—	—	5	Abscessus hepatis
46	31	—	—	—	2	Cystadenoma renis
47	29	—	—	—	7	Abscessus lienis
48	35	—	—	—	5	Cavernoma hepatis
49	42	—	—	—	12	Tumor lienis
50	32	—	—	—	9	Peritonitis tuberculosa
51	29	—	—	—	5	Große Stauungsleber
52	24	—	—	—	23	Hypernephroma
53	32	—	—	—	5	Abscessus hepatis
54	52	—	—	—	4	Carcinoma hepatis
55	35	—	—	—	2,5	Abscessus hepatis
56	20	—	—	—	6	Sarcoma fuso-cellul. teleangiectat. retroperiton.
57	21	—	—	—	?	Abscessus hepatis

1) ++ = stark positiv (komplette Bindung); + = positiv (starke Bindung und großer Niederschlag); ⊕ = schwach positiv (schwache Bindung und kleiner Niederschlag); — = negativ (komplette Lyse).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

benutzt. Das Serum wurde jedesmal durch Abpipettieren aus dem geronnenen Blute erhalten, das dem Kranken in üblicher Weise aus der Armvene entnommen, 30 Min. im Thermostat und 1 Std. im Eisschranke gelassen wurde.

Das Komplement wurde vor dem Versuche durch Herzpunktion Meerschweinchen entnommen und das Blut 1/2 Std. im Thermostat bei 37° C und bis zum Versuche ca. 2 Std. im Eisschrank gelassen. Das Komplement wurde jedesmal per se, mit dem Antigen und endlich mit den entsprechenden Seris titriert und zum Versuche in der Titermenge + 0,003 ccm benutzt.

Hammelblutkörperchen wurden durch Punktion der V. jugularis dem Tiere 1 Tag vor dem Versuche entnommen und nach Verteilung des defibrinierten Blutes auf Zentrifugengläschen im Eisschranke gelassen. Vor dem Versuche wurden sie 3mal mit 0,9-proz. Kochsalzlösung gewaschen. Blutkörperchen, die beim Waschen wiederholt die Kochsalzlösung färbten, wurden als unbrauchbar betrachtet.

Als Ambozeptor wurde derjenige benutzt, der den verwendeten Blutkörperchen entsprach, d. h. vom Kaninchen, das mit den Blutkörperchen vom entsprechenden Hammel geimpft worden war, stammte. Zum Versuche verwendete ich die 3fache Titerdosis. Nur Ambozeptoren mit einem Titer nicht unter 1:2000 wurden benutzt.

Der Versuch wurde nach vorausgegangenen Vorprüfungen mit fallenden Mengen Krankenserums und Antigens angestellt und war jedesmal von Kontrollen mit Normal- und Luesserum begleitet; stand ein geprüftes Echinokokkusserum zur Verfügung, so wurde auch dieses zur Kontrolle benutzt.

Jeder der 5 Komponenten wurde bis 0,5 ccm mit 0,9-proz. Kochsalzlösung ergänzt. Zur Fixierung des Komplementes wurden die Versuchsröhrchen 1 Std. und nach Zusatz des sensibilisierten hämolytischen Systems noch 1 Std. im Thermostat bei 37° C gelassen, dann wurde protokolliert, bis zum nächsten Morgen im Eisschrank gelassen und wieder protokolliert.

In der geschilderten Weise wurden im Laufe von 8 Jahren die Blutsera von 57 Kranken, bei denen die klinische, häufig auch die röntgenoskopische Untersuchung auf Anwesenheit eines Echinococcus hingewiesen hatte, untersucht. Außerdem ist in 56 von diesen Fällen zur Feststellung der Zahl der eosinophilen Zellen das Blut morphologisch untersucht. Mit sämtlichen Sera wurde auch die Wassermannsche Reaktion angestellt.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen, die in Tab. 1 zusammengestellt sind, ist zu entnehmen, daß 18 der untersuchten 57 Krankensera im Komplementbindungsversuche mit den von mir hergestellten Echinokokkusantigenen im inaktivierten Zustande negativ reagiert haben. Bei der Operation wurde auch in keinem dieser Fälle ein Echinococcus gefunden. In den übrigen 37 Fällen, in denen der Komplementbindungsversuch übereinstimmend mit aktivem und inaktivem Serum, in 1 Falle, in dem nur mit aktivem, und in 1 Falle, in dem nur mit inaktiviertem Serum ein positives oder stark positives Resultat erhalten wurde, ist bei der Operation ein Echinococcus konstatiert und somit die serologische Diagnose bestätigt worden.

Bemerkenswert ist aber die Tatsache, daß in 2 Fällen von Leberkarzinom die Komplementbindungsreaktion mit den aktiven Seris schwach positiv, und in 1 Falle sogar positiv, mit den inaktivierten Seren dagegen in sämtlichen Fällen negativ ausgefallen ist.

Was die parallelen Untersuchungen mit aktivem und inaktiviertem Serum bei den Echinokokkusfällen anbelangt, so haben unter 39 Echinococcus-Fällen 9 Sera in aktivem Zustande und 5 in inaktiviertem stärker Komplement gebunden; in 1 Falle hat das Serum, wie oben erwähnt, überhaupt nur in aktivem und in 1 Falle nur in inaktiviertem Zustande das Komplement gebunden.

Die letzterwähnten Ergebnisse der Untersuchungen weisen darauf hin, daß es zweckmäßig ist, die Versuche gleichzeitig mit frischem aktiven und inaktivierten Serum anzustellen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 2.

Welche Fälle sind untersucht worden?	Zahl der untersuchten Fälle	Mehr als 5 Proz. von eosinophilen Leukozyten	Mit aktivem Serum positive Ghedini-Weinberg-sche Reaktion	Mit inaktiviertem Serum positive Ghedini-Weinberg-sche Reaktion	Positive Wasser-mannsche Reaktion
Echinokokkusfälle	39	15	38	38	0
Krebs der Leber u. des Magens	6	4	3	0	1
Abszesse der Leber und Milz	5	2	0	0	0
Verschiedene Tumoren der inneren Organe	4	4	0	0	0
Cystische Veränderungen der Leber, Niere und Milz	3	0	0	0	0
Würmerträger	18	11	0	0	0
Luetiker mit stark posit. Wassermannscher Reaktion	68	5	2	2	68
Lepröse	6	1	2	2	2
Gesunde	32	0	0	0	0

Was die Ergebnisse der Wassermannschen Reaktion anbelangt, so hat von den 57 untersuchten Fällen das Serum des Falles mit stark ausgebreitetem Karzinom der Leber und des Magens, das auch positive Ghedini-Weinbergsche Reaktion gegeben hat, eine schwach positive Reaktion ergeben. Der 2. Fall mit positiver Wassermannscher Reaktion hat luetische Infektion zugestanden.

Da einige Autoren sich gegen die Spezifität der Ghedini-Weinbergschen Reaktion für den Echinococcus ausgesprochen, und darauf hingewiesen haben, daß das Blutserum von Wurmträgern (Mayer, Hahn u. a.), von Syphilitikern und Leprösen (Israel, Vas, Bayer), bei tuberkulöser Peritonitis (Paisseau und Tissier), Kystadenoma hepatis (Schultz) positive Ghedini-Weinbergsche Reaktion geben, habe ich zahlreiche Versuche mit den Seris vom gesunden Menschen, wie auch von Luetikern, Leprösen, Wurmträgern (mit Taenia solium, T. saginata, T. nana, Oxyuris vermicularis und Ascaris lumbricoides) angestellt (Tab. II).

Diese in Tab. II zusammengestellten Versuche zeigen, daß kein einziges der untersuchten 32 Normalsera und der 18 Sera von Wurmträgern weder die Ghedini-Weinbergsche noch die Wassermannsche Reaktion gegeben haben.

Von den 68 untersuchten Luetikerseris mit stark positiver Wassermannscher Reaktion haben 2 positive Ghedini-Weinbergsche Reaktion ergeben, doch ist hervorzuheben, daß diese Sera, wenn auch schwach, per se Komplement gebunden haben.

Dasselbe ist auch bei den leprösen Seris festgestellt worden: von den 6 untersuchten Fällen haben 2 sowohl mit dem Echinokokkusantigen

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

wie auch mit dem luetischen Antigen und selbst per se das Komplement gebunden.

Zieht man aber in Betracht, daß, wie meine Beobachtungen gelehrt haben (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1913) selbst normale Sera nach längerem Stehen im Eisschranke derart verändert werden, daß sie regelmäßig positive und stark positive Wassermannsche Reaktion liefern, so wird daraus zu schließen sein, daß die vereinzelten Fälle, in denen bei Abwesenheit des Echinokokkus positive Ghedini-Weinbergsche Reaktion beobachtet wurde, entweder auf die oben angegebene mangelhafte Technik oder auf eine Veränderung der betreffenden Sera zurückzuführen sind; diese Fälle können aus diesen Gründen nicht gegen die Spezifität der Ghedini-Weinbergschen Reaktion sprechen.

Im Gegenteil glaube ich auf Grund der Tatsache, daß in sämtlichen 39 Echinokokkusfällen die Reaktion positiv und in den übrigen 142 Fällen nur 2 Lues- und 2 Leprasera mit dem Echinokokkus- und Luesantigen wie auch per se das Komplement gebunden haben, Werbizky beipflichten zu müssen, der behauptet, daß der Häufigkeit nach dieses Symptom (die Ghedini-Weinbergsche Reaktion) unzweifelhaft der 1. Platz zukommt.

Daß es bei der Ghedini-Weinbergschen Reaktion sich um keine „Gruppenreaktion" im Sinne Mayers handelt, haben meine Untersuchungen in Uebereinstimmung mit denjenigen von Thomson und Magnussen sowie von Sonntag bewiesen.

Tabelle 3.

Laufende Nr.	1. 2 Wochen nach der Operation	2. 4 Wochen nach der Operation	3. 2 Mon. nach der Operation	4. 3 bzw. 5 Mon. nach der Operation	Bemerkungen über die klinischen Erscheinungen
1	++	++	++	— (++)	Kurz vor der 3. Untersuchung sind Stücke der Echinokokkusblase aus der Wunde abgesondert worden. Bei der letzten Untersuchung — 3 Monate nach der Operation — war die Reaktion nur mit aktivem Serum positiv.
2	++	++	++	—	Die 3. Untersuchung ist einige Tage nach Abgang d. Blasenreste ausgeführt worden.
3	+	⊕	—	.	3 Wochen nach d. Operation sind Reste d. Echinokokkusblase abgesondert worden.
4	+	—	.	.	Noch während der Blutentnahme zur 2. Untersuchung war eine eiternde Wunde vorhanden.
5	—	—	.	.	Bei der Operation ist eine einkammerige Echinokokkusblase vollständig entfernt worden.
6	++	+	.	.	Die 2. Untersuchung ist 3 Tage nach Absonderung von Blasenresten ausgeführt worden.
7	+	+	.	.	Im Eiter, der aus der Wunnde abgesondert wird, sind mikroskopisch Stückchen der Blasenwand nachgewiesen worden.
8	—	.	.	.	Bei der Operation ist eine kindskopfgroße Echinokokkusblase entfernt worden. Operationswunde geheilt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Schultz bzw. Paisseau und Tixier war in meinen Fällen von cystischer Veränderung der Leber und anderen Organen, wie auch bei der tuberkulösen Peritonitis die Ghedini-Weinbergschen Reaktion negativ.

Was die Intensität der Reaktion anbelangt, so war sie in der Mehrzahl der Fälle stark positiv und nur in einem Teile derselben konnte eine komplette Komplementbindung mit der größten Titerdosis des Antigens konstatiert werden, in welchen Fällen die Reaktion als positiv angegeben worden ist.

Irgendeine Beziehung zwischen Intensität der Reaktion, Lokalisation des Echinococcus, seiner Größe und seinem Bau konnte nicht festgestellt werden.

Ebenso wie Thomsen und Magnussen, Lejar, Parvu und Caillé konnte ich konstatieren, daß die Vereiterung des Echinococcus keinen Einfluß auf die Reaktion des Serums des betreffenden Kranken ausübt.

Trotz positiver Ghedini-Weinbergscher Reaktion ist es selbst mit stark positiven Echinokokkenseris bei Anwendung von verschiedenen luetischen Antigenen bei vorausgegangener genauer Titration sämtlicher zum Versuch benutzter Komponenten, kein einziges Mal gelungen, Komplementbindung zu erzielen.

In 8 der untersuchten 39 Fälle hatte ich Gelegenheit, die Ghedini-Weinbergsche Reaktion wiederholt — bis 4mal — nach der Operation zu untersuchen (s. Tab. III).

Aus den Ergebnissen dieser wiederholten Untersuchungen ist zu entnehmen, daß bei vollständiger Entfernung der Echinokokkenblase bei der Operation die positive Ghedini-Weinbergsche Reaktion schon im Verlaufe von 2 Wochen nach der Operation negativ wird. Wenn aber die Reaktion länger als 2 Wochen nach der Operation positiv bleibt, so spricht das dafür, daß entweder nicht sämtliche Echinokokken entfernt worden sind, oder, was bei Vereiterung der Blase häufig der Fall ist, noch Reste der Blase im Körper vorhanden sind. Von den untersuchten Echinokokkusfällen ist 1 Fall vor 6 Jahren schon wegen Echinococcus operiert worden.

Endlich sind noch die Ergebnisse der morphologischen Blutuntersuchungen, bei denen die Zahl der eosinophilen Zellen bestimmt wurde, zu erwähnen: Mehr als 5 Proz. eosinophiler Zellen wurde konstatiert: 1) in 15 von 39 Echinokokkusfällen, 2) in 4 von 6 Karzinomfällen, 3) in sämtlichen 4 Fällen mit Tumoren der inneren Organe, 4) in 1 von 6 Leprafällen, 5) in 5 von 68 Luesfällen, 6) bei 11 von 18 Wurmträgern.

Aus diesen Zahlen ist wohl zu entnehmen, daß, wenn auch der Eosinophilie kein diagnostischer Wert für den Echinococcus beigemessen werden kann, sie doch bei dieser Krankheit so häufig vorkommt, daß bei Fehlen von Würmern und Trichinen sie doch den Verdacht auf Echinococcus erwecken und Veranlassung zu anderweitigen Untersuchungen und besonders zur Anstellung der Ghedini-Weinbergschen Reaktion geben muß.

Zusammenfassung.

1) Von den untersuchten 57 Fällen, bei denen klinisch ein Echinococcus diagnostiziert wurde, hat der in der angegebenen Weise aus-

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geführte Komplementbindungsversuch in sämtlichen 39 Fällen, in denen bei der Operation ein Echinococcus festgestellt wurde, ein positives Resultat ergeben. — 2) Bei den Parallelversuchen mit aktivem und inaktiviertem Serum waren die Resultate in 59 Proz. der Fälle übereinstimmend, in 23,1 Proz. — mit dem aktiven, in 12,8 Proz. — mit dem inaktivierten Serum stärker ausgebildet und in 5,1 Proz. der Fälle ausschließlich mit dem aktiven bzw. mit dem inaktivierten Serum positiv. — 3) Von den untersuchten 142 anderweitigen, von Echinokokkus freien Fällen haben nur die aktiven Sera von 3 an Leberkrebs Leidenden, 2 Luessera mit stark positiver Wassermannscher Reaktion, die auch per se Komplement gebunden haben, wie auch 2 Leprasera, die ebenfalls per se Komplement gebunden haben, positives Resultat ergeben. — 4) Die Wassermannsche Reaktion war in sämtlichen Echinokokkusfällen, abgesehen von einem gleichzeitig an Lues Leidenden, negativ; von den übrigen 142 Fällen war sie, von den Luesfällen abgesehen, in 1 Krebsfalle schwach positiv und in 2 Leprafällen positiv. — 5) Nach der Operation wiederholt ausgeführte Versuche haben ergeben, daß bei vollständiger Entfernung sämtlicher Echinokokkusblasen die Ghedini-Weinbergsche Reaktion im Laufe von 2 Wochen negativ wird; solange aber Blasen oder Reste derselben im Körper vorhanden sind, bleibt die Reaktion positiv. — 6) Eosinophilie wurde in 38,5 Proz. der Echinokokkusfälle, in 66,6 Proz. der Krebsfälle, in sämtlichen Fällen mit Tumoren der inneren Organe, in 61,1 Proz. von Wurmträgern, in 7,4 Proz. der Luesfälle und in 16,7 Proz. der Leprafälle konstatiert. — 7) Aus allen diesen Tatsachen folgt, daß die mit zuverlässigem Antigen richtig ausgeführte Ghedini-Weinbergsche Reaktion eine ganz spezifische und zuverlässige Reaktion zur Diagnose des Echinococcus ist[1]).

Literatur.

Madelung, Beitr. Mecklenburger Aerzte z. Lehre von Echinococcus-Krankheiten. 1855. — Davain, Traité des entozoaires et de maladie verm. Paris 1860. Bull. Soc. de Biol. 1861. — Neißer, Die Echinokokkuskrankheiten. 1877. — Magnussen, Arch. f. klin. Chir. Bd. 100. 1910. — Sabrazès, Gaz. hebdom. Soc. méd. de Bordeaux. 1909. — Wagner, Russky Wratsch. 1908; Centralbl. f. inn. Med. 1908. — Fleig et Lisbonne, Compt. rend. Soc. Biol. 1907. — Welsh and Shapman, Lancet. 1908. — Bontemps, München. med. Wochenschr. 1913. S. 721. — Puatoni, Poliklinico. 1910. — Putzu, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1911. — Israel, Ztschr. f. Hyg. Bd. 66. 1911. — Welsh, Chapman and Storey, Lancet. 1909. — Weinberg et Laroche, Compt. rend. Soc. Biol. 1909. — Ascoli, München. med. Wochenschr. 1910. Nr. 2. — Weinberg et Parvu, Compt. rend. Soc. Biol. 1908. p. 798. — Eckenstein, Lancet. 1910. — Abrikosow, Medicinsk. Obosren. 1913. p. 609. — Lejars, Semaine méd. 1911. Nr. 12. — Weinberg, Ann. l'Inst. Past. 1909; Compt. rend. Soc. Biol. 1910. p. 410. — Graetz, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6. S. 627. — Braunstein, Wien. klin. Wochenschr. 1910. — Barsony u. Egan, Ztschr. f. klin. Med. Bd. 76. 1912. — Henius, Dtsch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 26. — Vas, Wien. med. Wochenschr. 1911. Nr. 4. — Parvu, Compt. rend. Soc. Biol.

1) Die ausführlichen, sehr lehrreichen Krankheitsgeschichten, die ich der Raumersparnis wegen nicht beibringen kann, sind mir von den Herren Dr. Rose, Prof. Dr. Istomin (†), Dr. Dobromyslow, Dr. Taft und Dr. Sergijewsky, denen ich zu Danke verpflichtet bin, überlassen worden.

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

T. 66. 1909. — Jianu, Wien. klin. Wochenschr. 1912. Nr. 42. — Kreuter, München. med. Wochenschr. 1909. Nr. 36; Ergebn. d. Chir. 1912. S. 133. — Meyer, Kurt, Berlin. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 28. — Falcaiano, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1913. S. 138. — Bauer, München. med. Wochenschr. 1911. Nr. 20. — Busson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. — Hahn, München. med. Wochenschr. 1912. Nr. 25. — Thomsen u. Magnussen, Berl. klin. Wochenschr. 1912. Nr. 25. — Sonntag, Beitr. z. klin. Chir. Bd. 82. 1912. — Silber u. Chmelnizky, Charkower med. Journ. Bd. 16. 1913. — Werbitzky, Zur Symptomatologie und Diagnose des einzelligen Leberechinococcus. 1917. (Russisch.) — Stenza, Wien. klin. Wochenschr. 1909. S. 1489.

Nachdruck verboten.

Ueber vergleichende intrakutane und intravenöse Sensibilisierung des Menschen mit Kaninchenserum.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik Leipzig (Direktor: Prof. Dr. Bessau).]

Von Dr. **Otto Köhler,** Assistenzart, und **Georg Heilmann,** Medizinalpraktikant.

Die Bedeutung der Funktionen der Haut für den gesamten inneren Organismus bei den exanthematischen Infektionskrankheiten ist von alters her ebenso bekannt wie die Heilwirkung von Hautreizen aller Art auf Krankheitsprozesse in den inneren Organen. Bei den exanthematischen Erkrankungen scheint die Immunkörperbildung um so besser zu sein, je intensiver der Ausschlag auf der Haut auftritt.

Degkwitz empfiehlt deshalb gerade die Kinder als geeignete Masernrekonvaleszentenserumspender, die einen starken Ausschlag hatten. Wichtig für den Zusammenhang der Haut und der inneren Organe erscheint ferner die Erfahrung, daß bei ausgedehnten Erkrankungen der Haut an tertiärer Syphilis und Lupus vulgaris die inneren Organe oft freibleiben. Tabiker und Paralytiker haben im Frühstadium ihrer Syphilis häufig nur an geringen Hauterscheinungen gelitten, und die Prognose der angeborenen Lues ist günstiger, wenn in erster Linie die Haut an den Krankheitserscheinungen teilnimmt.

Diese und noch eine Reihe anderer Betrachtungen führten Hoffmann zu dem Ergebnis, daß die Haut nicht nur die Aufgabe habe, den Organirmus nach außen vor Schädigungen zu schützen, sondern auch einen nach innen gerichteten aktiven Schutz ausübe. Er bezeichnet diese Hautfunktion als „Esophylaxie" und spricht den von der Haut gebildeten Schutz- und Heilstoffen eine wesentliche Rolle im Kampfe gegen die Parasiten und ihre Gifte zu. Die Heilwirkung allgemeiner Lichtbäder (Höhensonne) glaubt Hoffmann am einfachsten als eine Heilwirkung durch die Haut zu erklären, als Folge einer inneren Sekretion der Epithelien der Epidermis; denn die kurzwelligen wirksamen Lichtstrahlen werden zum größten Teil von den alleroberflächlichsten Hautschichten absorbiert und können somit kaum einen unmittelbaren Einfluß auf tiefer gelegene Organe oder Gewebe nehmen.

Neben Hoffmann war es Bruno Bloch, der auf Grund gleicher und noch anderer klinischer Beobachtungen der Haut eine bisher noch nicht genügend gewürdigte wichtige Funktion zum Schutz des Organismus zuschreibt.

Experimentell ist die Frage nach der Funktion der Haut von Fellner und E. F. Müller bearbeitet worden. Die Ergebnisse von Fellner wurden unter erweiterten und exakten Versuchsbedingungen (quantitativ) an der Leipziger Universitäts-Kinderklinik mit negativem Erfolge nachgeprüft. An anderer Stelle wird hierüber ausführlich berichtet werden. Müller konnte bei chronischer und subakuter Gonorrhöe durch intrakutane Einverleibung unspezifischer Stoffe (Aolan) Erscheinungen auslösen — Vermehrung des Ausflusses wenige Stunden nach der Injektion — die bei subkutaner oder intramuskulärer Einspritzung erst durch die 50—100-fache Menge zu erreichen waren. Auf Grund dieser Fernwirkung spricht Müller von der Wichtigkeit

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

der Haut für den Ablauf biologischer Vorgänge im Organismus. Nachuntersuchungen bestätigen seine Angaben nicht.

Ueberzeugende Beweise für die aktiv schützende Funktion der Haut konnten also bisher noch nicht erbracht werden, aber es legen doch gerade die oben ausgeführten klinischen Beobachtungen, die Hoffmann zur Hypothese der Esophylaxie führten, die Vermutung nahe, daß vielleicht die menschliche Haut ein sehr guter Antikörperbildner sei. Allerdings ist der Zusammenhang zwischen Exanthembildung und Allgemeinschutz vieldeutig; könnte doch sehr wohl eine starke Exanthembildung nicht die Ursache des Schutzes, sondern seine Folge sein, d. h. die Folge einer starken Antikörperbildung, wobei über den Ort derselben a priori nichts ausgesagt werden könnte. Ob die Haut selbst Stätte der Antikörperbildung ist oder sein kann, wurde bisher experimentell nicht untersucht. Eine derartige Annahme würde unseren bisherigen Anschauungen über die Bildungsstätten der Antikörper widersprechen. Es sei darum hier zuerst ein Ueberblick über die wichtigsten experimentellen Feststellungen über die Stätten der Antikörperbildung gegeben.

Die Schule von Metschnikoff, die sich zuerst mit den Fragen über Antikörper beschäftigte, nahm hypothetischerweise die Leukozyten des Blutes als Antikörperbildner an.

Durch das Experiment versuchten zuerst R. Pfeiffer und Marx, die Frage nach den Bildungsstätten bakteriolytischer Antikörper zu klären, indem sie von der Beobachtung ausgingen, daß das Blut eines Kaninchens nach 1maliger subkutaner oder intravenöser Injektion einer abgetöteten Cholerakultur innerhalb weniger Tage eine starke Veränderung erfährt. Sie hofften, daß bei der rapiden Neubildung spezifischer Antikörper deren Produktion rascher erfolge als ihre Abgabe an das Blut. Es mußte demnach zu gewissen Zeiten ein Plus von Antikörpern gegenüber dem Blute in den Zellkomplexen, die die Antikörper bildeten, nachzuweisen sein. So untersuchten sie zuerst die nach Annahme Metschnikoffs als Antikörperbildner in Frage kommenden Leukozyten, sowohl aus dem Blute, wie aus steril erzeugtem Pleuraexsudat, ohne jemals ein Mehr an Antikörpern durch den Pfeifferschen Versuch nachweisen zu können. Weiter untersuchten sie verschiedene Organextrakte immunisierter, getöteter Tiere auf ihren Antikörpergehalt, indem sie dabei annahmen, daß, wenn ein Organ bei dem prozentual nur geringen Blutgehalt desselben nur ebenso oder gar stärker wirksam als das Blut gefunden würde, es ein Beweis wäre, daß dieses Organparenchym antikörperbildende Funktionen hätte. Es zeigte sich einwandfrei, daß die Milz in bis 8mal stärkerer, das Knochenmark und die Lymphdrüsen in gleicher Menge Schutzstoffe besaßen wie das Blut. Sämtliche anderen untersuchten Organe besaßen weniger Schutzstoffe. Es kamen also die blutbildenden Organe als Bildungsstätten bakteriolytischer Antikörper in Betracht. Zu übereinstimmenden Resultaten kam Wassermann bei gleichen Versuchen mit Typhusbazillen. Angeregt durch die Resultate von Römer, der mit Abrin eine lokale Immunität des Conjunctivalgewebes gegen dieses erhielt, ferner durch den Versuch von v. Dungern, der nach Injektion eines Krabbenserums in die vordere Augenkammer eines Kaninchens fand, daß später das Kammerwasser dieses Auges das Antigen präzipitierte, bearbeiteten Wassermann und Citron die Frage der Antikörperbildungsstätten mit geänderter Methodik aufs neue. Sie bezweifelten nämlich die von Pfeiffer und Marx auf Grund ihrer Versuche aufgestellte Behauptung, daß die blutbildenden Organe die alleinigen Bildungsstätten der Antikörper seien. Da bei subkutaner oder intravenöser Injektion des Antigens das Blut und damit auch die blutbildenden Organe zuerst mit ihm in Berührung kämen, müßten diese auch in erster Linie die Antikörperbildung übernehmen. Diese Begrenztheit der Versuchsbedingung wollten sie ausschalten und nachweisen, daß jedes mit Antigen zuerst in Berührung kommende Organ die Antikörperbildung übernähme. Deshalb benutzten sie die intrapleurale oder intraperitoneale Vorbehandlung, und zwar mit abgetöteter Typhuskultur. War dann der Antikörpergehalt der Pleura bzw. Peritonealzellen höher als das Blut, so schien der Beweis erbracht, daß diese selbständige Antikörperbildner waren, wobei ein negatives Ergebnis keine Beweiskraft gehabt hätte, da der Versuch bei individuell mehr oder weniger schneller Resorption des Antigens durch die serösen Häute negativ ausfallen konnte. Sie kamen auf Grund der Versuche zu dem Resultat: „Immerhin ist, diese Ausnahme abgerechnet, die Tatsache des hohen Antikörpergehaltes der Pleura- und Peritonealzellen so häufig aufgetreten, daß die Möglichkeit, daß sie Antikörper bilden, klar hervorgeht.“ Somit können ihrer Auffassung nach nicht ein bestimmtes Organgewebe, sondern die verschiedensten Zellen je nach Gelegenheit Antikörper bilden. Diese, von Wassermann und Citron festgestellte „lokale Immunität der Gewebe“ prüfte Paetsch im R. Pfeifferschen Laboratorium mit der gleichen Versuchsanordnung nach verschiedenen Seiten hin genau durch; nur wählte er zur Bestimmung des Antikörpertiters anstatt des nicht einwandfreien bakteriziden Reagenzglasversuches ausschließlich den zuverlässig arbeitenden Pfeiffer-

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

schen Versuch, den jene Autoren nur in einer kleinen Minderzahl ihrer Experimente benutzt hatten. Er konnte deren Annahme nicht bestätigen, da er niemals, weder in Pleura- und Peritonealgewebe, noch in ihren Exsudaten, einen vermehrten Antikörpergehalt gegenüber dem Blute nachweisen konnte. Die Auffassung, daß eine lokale Entstehung der bakteriolytischen Immunstoffe möglich sei, findet in seinen Versuchen keine Stütze.

Der Frage nach den Bildungsstätten speziell anaphylaktischer Antikörper versuchte zuerst Braun näherzutreten. Er wollte nach der Versuchsanordnung von Pfeiffer und Marx anaphylaktische Reaktionskörper gegen Pferdeserum in den Organen der Versuchstiere nachweisen. Anaphylaktische Meerschweinchen wurden verblutet, die Organe ausgespült und verarbeitet. Das Gehirn wurde oft frisch, die übrigen Organe nach Trocknung in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, die nach 48 Std. reinjiziert wurden. Er konnte nie anaphylaktische Erscheinungen beobachten nach Injektion von Leber, Niere, Herz, Milz und Gehirn anaphylaktischer Meerschweinchen. Weiterhin untersuchten Doerr und Moldovan, ob die Exsudatleukozyten und die Erythrozyten als anaphylaktische Antikörperbildner in Frage kämen, da neben anderen Autoren Krauss und Schiffmann das Blut als Bildungsstätte spezifischer präzipitierender Substanzen betrachteten. Auf Grund ihrer Versuche kamen die Erythrozyten als Antikörperbildner bestimmt nicht in Betracht, während sie die Rolle der Leukozyten mangels zureichender Versuche noch ungeklärt lassen mußten. Dagegen stellten Wassermann und Leuchs in ähnlicher Versuchsanordnung fest, daß in Analogie zur bakteriolytischen Antikörperbildung der anaphylaktische Antikörper im Knochenmark gebildet werden muß. Von Tieren, die mit Pferde- und Rinderserum sensibilisiert waren, wurden sämtliche Organe, darunter auch das Knochenmark, Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, wobei nur im Knochenmark das Vorhandensein anaphylaktischer Antikörper durch passive Uebertragung nachgewiesen werden konnte. Um die Wirkung von Antikörpern, die in dem im Knochenmark sensibilisierter Tiere noch vorhandenen Serum enthalten waren, auszuschalten, wurde das Knochenmark peinlich ausgewaschen. Darauf wurden mit Knochenmark einerseits und dem die Serumreste enthaltenden Waschwasser andererseits Meerschweinchen passiv präpariert. Bei darauf folgender Injektion des entsprechenden Antigens erwies sich das Knochenmark stets als antikörperhaltig, das Waschwasser aber niemals. Es wurde damit einwandfrei das Vorhandensein der Antikörper im Knochenmarksgewebe nachgewiesen. Die schon erwähnten Versuche von v. Dungern über Präzipitinbildung in der vorderen Augenkammer, sowie die Annahme einer lokalen Immunität der Gewebe durch Wassermann u. Citron veranlaßten Friedberger u. Girgolaff zu der Untersuchung, ob bei intravenöser Vorbehandlung noch andere Organe als die blutbildenden bei der Bildung sowohl anaphylaktischer wie bakteriolytischer Antikörper in Frage kämen. Sie implantierten verschiedene blutleer gemachte Organe sensibilisierter Kaninchen und Meerschweinchen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen, die nach reaktionsloser Einheilung dieser Organstücke mit dem entsprechenden Antigen injiziert wurden. Es fand sich, daß alle Meerschweinchen mit implantierten Organen anaphylaktisch reagierten, wobei es auffiel, daß Milzstücke stärkere Antikörperproduktion aufwiesen als Nierenstücke. Entfernte man die beim Meerschweinchen gut eingeheilten Organe wieder und injizierte dann das Antigen, so trat auch da in allen Fällen eine anaphylaktische Reaktion auf. Weiterhin versuchten auch Busson und Kirschbaum, nach der Versuchsanordnung von Pfeiffer und Marx die wahrscheinliche Bildungsstätte anaphylaktischer Antikörper festzustellen. Organe anaphylaktischer Kaninchen und Meerschweinchen wurden zerrieben und extrahiert und damit Meerschweinchen intraperitoneal vorbehandelt, die intravenös reinjiziert wurden. Kontrollversuche, die mit dem Blute getöteter Tiere angestellt wurden, hatten positive Resultate, während, außer bei Milztieren, keinerlei anaphylaktische Erscheinungen auftraten. Aber auch die Milztiere zeigten nur geringe Erscheinungen. Beide Autoren schlossen, daß die vollkommen negativen Resultate dafür sprechen, daß die Bildungsstätte anaphylaktischer Antikörper nicht in den Organen selbst, sondern in der Blutbahn (Gefäßwand) gesucht werden könnte, ganz analog den für die Präzipitinbildungsstätten geltenden Beobachtungen von Krauss und Schiffmann. Gegenüber diesen Anschauungen hielten einige französische Autoren das Zentralnervensystem für die Stätte der Antikörperbildung. Richet erhielt nämlich wiederholt passive Anaphylaxie mit dem Gehirn von Hunden, die gegen Krepitin überempfindlich waren, auch wenn das Serum frei von Antikörpern war. Er verlegt daher die Entstehung der letzteren in das Zentralnervensystem. Neben noch anderen Autoren glauben auch Abelous und Bardiner, daß der als anaphylaktischer Antikörper bezeichnete Stoff durch Degeneration und Autolyse der Hirnsubstanz entsteht, welche durch die 1. Antigeninjektion ausgelöst werden. Normale Kaninchen reagierten nämlich wie überempfindliche, wenn man ihnen vorher Extrakte aus normaler, autolysierter Hirnsubstanz intravenös injiziert hatte, während sich Auszüge

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

aus nicht autolysiertem Gehirn, aus autolysierten Muskeln oder Leber als unwirksam erwiesen. Die von Doerr und Moldevan und Wassermann und Leuchs gemachte Annahme, daß die anaphylaktischen Antikörper in Analogie zu der Pfeiffer- und Marxschen Feststellung über die Bildungsstätte bakteriolytischer Antikörper in den blutbildenden Organen produziert werden, konnte dann später noch auf verschiedenen Wegen bestätigt werden: V. Heinrich bestrahlte mit Pferdeserum vorbehandelte Meerschweinchen mit Röntgenstrahlen. Unter gewissen Bedingungen waren diese Tiere gegen eine intravenöse Reinjektion des Antigens weniger empfindlich als nicht bestrahlte Kontrolltiere oder zeigten gar keine anaphylaktische Reaktion. Weniger deutlich äußerte sich der Einfluß der Bestrahlung, wenn man sie erst 8 oder gar 14 Tage nach der präparierenden Injektion vornahm. Kurz vor der Reinjektion hatte sie gar keine Wirkung. Daraus geht hervor, daß an der Abschwächung oder Verhinderung des Schocks nicht eine Schädigung des Komplements oder eine Störung der Reaktion zwischen Antigen und Antikörper Schuld tragen kann. Die Prüfung mit Hilfe des passiv anaphylaktischen Versuchs ergab, daß das Serum von Meerschweinchen, die unmittelbar nach der Sensibilisierung bestrahlt waren, nach Verlauf von 3 Wochen keine Antikörper enthielt, im Gegensatz zu dem Serum von Kontrollen. Nun weiß man, daß die Röntgenstrahlen einerseits die lymphatischen Organe schwer schädigen und daß sie andererseits auch die Produktion anderer Eiweißantikörper (Präzipitine und Agglutinine) beeinträchtigen. Es scheint also der Schluß gerechtfertigt, daß die Abschwächung der Anaphylaxie durch Röntgenstrahlen darauf zurückzuführen ist, daß die Entstehung der anaphylaktischen Antikörper eine Behinderung erfährt, die als Folge der gesetzten Veränderungen in den lymphatischen Organen anzusehen ist. Es ist nicht unmöglich, daß der in erster Linie geschädigte lymphatische Apparat die ihm normalerweise zukommende Antikörperbildung nicht mehr übernehmen kann. Fellander und Kling präparierten Kaninchen durch zweimalige intravenöse Injektion von Hammelserum oder roher Kuhmilch und konnten später durch gewaschene Exsudatleukozyten der Tiere normale Meerschweinchen passiv anaphylaktisch machen. Von den blutfreien Organen der Kaninchen besaß nur das Knochenmark, nicht aber Milz, Leber, Nebenniere oder Gehirn ein passives Präpariervermögen. Sie stellten ferner als wichtig fest, daß abgetötete Organzellen sensibilisierter Kaninchen und Meerschweinchen das Antigen noch enthalten. Die Versuche von Friedberger und Girgolaff, welche durch Implantation der verschiedensten Organe überempfindlicher Tiere in die Bauchhöhle normaler eine Anaphylaxie erzielten, die erst 10 Tage nach der Operation auftrat, müssen demnach nicht notwendig so gedeutet werden, daß die transplantierten Gewebe an ihrem neuen Standort Antikörper sezernieren und das Versuchstier passiv sensibilisieren, sondern es kann möglicherweise das im reaktionslos eingeheilten, aber abgestorbenen Organe enthaltene Antigen das Versuchstier zur aktiven Antikörperbildung angeregt haben. Für die Entstehung anaphylaktischer Antikörper in den blutbildenden Organen spricht endlich ein neuerer Versuch von Przygode, nach dem Milzgewebe von Kaninchen, welches in einer Plasmakultur der Einwirkung von Pferdeserum ausgesetzt wird, in vitro ein spezifisches Präzipitin produziert. Das gleiche Resultat wurde erhalten, wenn man einem Kaninchen intravenös Pferdeserum einspritzte und die nach 24 Std. entnommene Milz in Plasma kultivierte.

Wenn wir die Frage nach der Bildung der Antikörper kurz zusammenfassen, können wir feststellen, daß, während die Annahme der Bildungsstätten bakteriolytischer Antikörper in den blutbildenden Organen durch die Arbeit von Paetsch hinreichend gesichert erscheint, die Akten über die Frage nach den Bildungsstätten anaphylaktischer Antikörper hingegen noch nicht geschlossen sind. Noch immer ist nicht völlig geklärt, ob die blutbildenden Organe allein anaphylaktische Antikörper zu bilden vermögen, oder ob auch, je nach dem Einverleibungsort des Antigens, andere Organe oder Gewebe teilweise oder ausschließlich diese Funktion übernehmen können. Kämen die blutbildenden Organe allein für die Antikörperbildung in Betracht, so wäre bei intravenöser Sensibilisierung mit so geringen Antigendosen, daß sie der unteren Schwelle der Wirksamkeit naheliegen, eine stärkere anaphylaktisierende Wirkung zu erwarten als bei jeder anderen Art der Sensibilisierung. Bessau war es nun bei seinen Ueberempfindlichkeitsstudien am Menschen von jeher aufgefallen, mit wie kleinen Serumdosen sich bei intrakutaner Darreichung eine spezifische Ueberempfindlichkeit

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

beim Menschen erzielen läßt. Diese Beobachtung erweckte Zweifel, ob hier die Antikörperbildung wirklich allein oder vorwiegend in den blutbildenden Organen erfolgt oder ob nicht die Haut selbst Träger dieser Funktion ist bzw. sein kann. Um diese Frage zu entscheiden, haben wir auf Anregung von Herrn Prof. Bessau Versuche angestellt, bei denen die Wirkungen einerseits intrakutaner, und andererseits intravenöser Sensibilisierung mit kleinsten, eben noch wirksamen Antigendosen miteinander verglichen wurden.

Die Untersuchung wurde mit Hilfe des aktiv-anaphylaktischen Versuchs am Menschen mit einer Methodik durchgeführt, bei der wir glauben, alle Fehlerquellen ausgeschlossen zu haben.

Es wurden Kinder mit einer einmaligen Injektion verschieden hoher Serumdosen entweder intrakutan oder intravenös vorbehandelt und am 9. Tage sämtlich mit 0,1 ccm desselben unverdünnten Serums intrakutan auf ihren anaphylaktischen Zustand geprüft.

Die Versuche wurden im ganzen auf 65 Kinder der Klink im Alter von 1—14 Jahren und im Gewicht von 9—35 kg ausgedehnt. Von diesen Kindern waren:

17 wegen tuberkulöser Erkrankungen, 16 wegen akuter Infektionskrankheiten, 8 wegen Erkrankungen des Nervensystems, 7 wegen Erkrankungen der Urogenitalorgane, 5 wegen Erkrankungen der Lunge nicht tuberkulöser Art, 4 wegen Idiotie, 3 wegen Hauterkrankungen, 2 wegen Lues congenita, je 1 wegen Herzerkrankung, Rachitis, Unterernährung in klinischer Behandlung. Sämtliche Kinder befanden sich im Rekonvaleszenzstadium, zeigten keine febrilen Temperaturen und waren in gleichmäßig zunehmend gutem Allgemeinzustande.

Die Verwendung von Kaninchenserum als anaphylaktischem Antigen gab die Gewißheit, daß:

1) die Kinder parenteral nicht schon früher mit dieser Serumart vorbehandelt waren, — 2) eine Sensibilisierung auf enteralem Wege dabei viel weniger wahrscheinlich war, als bei Verwendung von Rinder-, Hammel- oder auch Pferdeserum, — 3) die Kinder in Hinsicht auf spätere serumtherapeutische Maßnahmen nicht gefährdet wurden.

Das Kaninchenserum gelangte inaktiviert zur Verwendung.

Die Gegenüberstellung der Wirkung intrakutaner und intravenöser, sensibilisierender Seruminjektionen verlangte exakte Technik beider Injektionsarten. Zu diesem Zwecke wurde eine völlig neue 1 ccm-Rekordspritze mit noch völlig ungebrauchten Kanülen nur zu diesen Injektionen verwandt. Die intrakutane Injektion mußte die Sicherheit geben, daß die ganze Dosis Antigen streng intrakutan deponiert wurde. Eine solche intrakutan ausgeführte Injektion von 0,1 ccm Serum oder dessen Verdünnung zeigt eine derbe, weiße, deutlich erhabene Quaddel von etwa 8—10 mm Durchmesser. Bei der intravenösen Injektion hingegen durfte keine Spur Serum mit der Haut in Berührung kommen: mit einer physiologische Kochsalzlösung enthaltenden Rekordspritze wurde die Haut durchstochen, die Vene punktiert und eine geringe Menge Kochsalzlösung injiziert. Die Kanüle wurde in der Vene belassen und mit der einen Hand fixiert, während die Kochsalzspritze nunmehr mit einer serumgefüllten vertauscht und das Serum intravenös injiziert wurde. Nun wurde die Serumspritze wieder gegen die Kochsalzspritze vertauscht, der Rest Kochsalzlösung injiziert und jetzt erst die Kanüle entfernt. Um hierbei möglichst präzis dosieren zu können,

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurde die der intrakutanen Injektion von 0,1 ccm entsprechende Dosis als 1 ccm einer 10-fachen Verdünnung intravenös gegeben.

Die bei den Kindern hervorgerufene anaphylaktische Lokalreaktion wurde dauernd kontrolliert, alle 24 Std. gemessen und nach dem von Pirquet angegebenen Schema aufgeschrieben, wobei die Ausdehnung der Reaktion in zwei aufeinander senkrechten Durchmessern in Millimetern gemessen und deren Mittel als Zahl notiert wurde. Die Stärke der Infiltration wurde durch Zeichen über dieser, die der Rötung unter dieser verzeichnet, und zwar bedeutet:

···· fehlend, — schwach, **—** deutlich, **▬** stark.

Es wurden zunächst 6 Gruppen zu je 3 oder 4 verschiedenaltrigen Kindern

mit 0,3 ccm } unverdünnten Kaninchenserums I
„ 0,1 „ }
„ 0,1 „ 1 : 10 }
„ 0,1 „ 1 : 100 } verdünnten Kaninchenserums I
„ 0,1 „ 1 : 1000 }
„ 0,1 „ 1 : 10 000 }

Tabelle I (Kaninchenserum I).

Intrakutane Vorbehandlung		1. Injektion		2. Injektion		Intravenöse Vorbehandlung		1. Injektion		2. Injektion	
K	10	0,3	— — —	0,1	22 15 — — —	W	14	0,3	— — —	0,1	22 22 29 20 —
Ch	2½	„	— — —	„	11 22 31 25 —	M	5¾	„	— — —	„	8 — — — —
R	2½	„	— — —	„	9 10 — — —	A	5	„	— — —	„	— — — — — —
Sch.	1½	„	— — —	„	12 14 — — —	H	2½	„	— — —	„	— — — — — —
K	10¼	0,1	20 17 —	0,1	30 47 32 27 —	H	8	0,1	— — —	0,1	— — — — —
N	6½	„	— — —	„	15 24 — — —	O	7	„	— — —	„	12 10 — — —
D	4	„	— — —	„	— 15 — — —	K	2½	„	— — —	„	8 6 — — —
A	2¾	„	— — —	„	16 15 — — —	H	1½	„	— — —	„	— — — — —
H	10¾	0,01	— — —	0,1	— — — — — —	H	9	0,01	— — —	0,1	— — — — —
G	7¾	„	20 22 10	„	60 95 80 40 —	F	4½	„	— — —	„	— — — — —
P	5½	„	— — —	„	31 35 — — —	E	4	„	— — —	„	8 13 16 — —
D	3	„	— — —	„	— — — — — —	Sch	2½	„	— — —	„	— — — — —
D	14	0,001	— — —	0,1	— — — — — —						
K	2	„	— — —	„	— — — — — —						
A	2	„	— — —	„	— 17 — — —						
B	6	0,0001	— — —	0,1	— — — — — —						
M	2½	„	— — —	„	— — — — — —						
O	2¼	„	— — —	„	— — — — — —						
R	11	0,00001	— — —	0,1	— — — — — —						
F	3	„	— — —	„	— — — — — —						
Th	1½	„	— — —	„	— — — — — —						

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

intrakutan vorbehandelt und, wie oben angegeben, intrakutan reinjiziert. Hierbei ergab sich 0,001 ccm Kaninchenserum I als die geringste Dosis mit deutlich sensibilisierender Wirkung. Intrakutan injiziert vermochten also bereits sehr kleine Antigendosen eine volle anaphylaktisierende Wirkung hervorzurufen, wie sie stärker selbst durch wesentlich größere Antigendosen nicht mehr ausgelöst werden kann.

Den 3, mit den Dosen 0,3, 0,1 und 0,01 ccm Kaninchenserum I intrakutan vorbehandelten Gruppen wurden drei ebenso intravenös vorbehandelte und wie oben intrakutan reinjizierte Gruppen von je 4 Kindern gegenübergestellt. Es umfaßte auch hier jede Gruppe ältere und jüngere Kinder, so daß bei der Gegenüberstellung intravenös und intrakutan vorbehandelter Kinder stets etwa gleichaltrige verglichen wurden. Die Ergebnisse der intrakutanen Vorbehandlung einerseits und der intravenösen andererseits zeigt Tab. I (S. 117).

Um die in diesem Versuche gewonnenen Resultate, die für eine besondere Rolle der menschlichen Haut als sensibilisierenden Organs sprechen, noch sicherer zu erhärten und etwa im Spiele gewesene Zufälle auszuschließen, wurde ein zweiter Versuch in analoger Weise mit einem Kaninchenserum II als Antigen durchgeführt. Als höchste zu vergleichende Dosis wurde hier 0,2 ccm statt 0,3 ccm Antigen gegeben. Gegenüber der im ersten Versuche ermittelten geringsten, intrakutan noch deutlich wirksamen Dosis von 0,001 ccm Antigen wurde die gleiche

Tabelle II (Kaninchenserum II).

Intrakutane Vorbehandlung						Intravenöse Vorbehandlung					
		1. Injektion		2. Injektion				1. Injektion		2. Injektion	
Z	7	0,2	— — —	0,1	20 27 27 30 —	B	10 1/4	0,2	— — —	0,1	22 31 17 15 —
Ö	1 3/4	„	— — —	„	9 5 5 — —	K	4	„	— — —	„	21 21 20 — —
M	1 1/2	„	— — —	„	10 25 27 30 25	U	3 1/4	„	— — —	„	20 21 15 15 —
R	1 1/4	„	— — —	„	11 15 16 14 —	W	2 1/2	„	— — —	„	— 17 15 — —
P	10 3/4	0,1	— — —	0,1	15 20 15 — —	B	6 1/2	0,1	— — —	0,1	— 20 — — —
B	8	„	— — —	„	20 — — — —	M	5 1/2	„	— — —	„	20 25 20 20 —
G	2 1/2	„	— — —	„	10 15 15 11 —	H	4	„	— — —	„	— — — — —
L	2	„	— — —	„	— 15 12 — —	K	2 3/4	„	— — —	„	— — — — —
W	10 1/2	0,01	— — —	0,1	25 — — — —	D	11	0,01	— — —	0,1	25 20 17 — —
G	4 3/4	„	— — —	„	25 — — — —	Th	5	„	— — —	„	— — — — —
Gr	4 1/4	„	— — —	„	— — — — —	D	4 3/4	„	— — —	„	— — — — —
S	2 3/4	„	— — —	„	— — — — —	P	3	„	— — —	„	— — — — —
W	3	0,001	— — —	0,1	20 — — — —	D	9 1/4	0,001	— — —	0,1	16 — — — —
G	2 1/2	„	— — —	„	— — — — —	W	7 1/2	„	— — —	„	— — — — —
B	2	„	— — —	„	— — — — —	M	5	„	— — —	„	— — — — —
R	1 1/2	„	— — —	„	— — — — —	F	2	„	— — —	„	— — — — —

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antigendosis auch intravenös injiziert, um auch die sensibilisierende Wirkung kleinster intravenöser Antigendosen vergleichen zu können. Das hierbei verwandte Kaninchenserum II schien eine etwas stärkere, anaphylaktisierende Wirkung zu besitzen, als das Kaninchenserum I. Die Ergebnisse dieses 2. Versuches zeigt Tab. II (S. 118).

Vergleicht man nun nach beiden Versuchen in Tab. I und II die anaphylaktischen Reaktionen nach intrakutaner und intravenöser Vorbehandlung, so gelangt man zu der Ueberzeugung, daß bei intrakutaner Einverleibung des Antigens die Produktion von Antikörpern mindestens in gleichem, wenn nicht stärkerem Maße auftritt, als bei intravenöser Injektion. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, daß möglicherweise der menschlichen Haut bei der Bildung von Antikörpern eine ganz besondere Rolle zukommt.

Die aufgetretenen anaphylaktischen Reaktionen hatten im einzelnen folgenden Charakter: Eine allgemeine Reaktion in Gestalt von Beeinflussung der Körpertemperatur, Serumexanthem oder sonstigen Symptomen der Serumkrankheit konnte bei den verwandten Antigendosen in keinem Falle beobachtet werden. Es traten vielmehr immer nur lokale Reaktionen auf. Diese boten deutlich den Typ der intrakutanen Reaktion auf Serum: Es fand sich zuerst eine mehr oder weniger deutlich umschriebene Rötung, die die Grenzen der begleitenden, verschiedengradigen Infiltration nicht überschritt. Mit zunehmender Ausbreitung der Reaktion an den folgenden Tagen zeigte sich bald, besonders bei den stärkeren Reaktionen, daß das Maximum der Entzündung in der Peripherie der Reaktion sitzt, während die Mitte bereits leicht abzublassen beginnt. Blieb die Reaktion länger deutlich, so bildete sich das bekannte Kranzphänomen (Bessau) aus: Reaktionsloses, helles Zentrum, in der Peripherie von zum Teil voneinander getrennten, zum Teil konfluierenden, geröteten Reaktionsherden umgeben.

Die erste vorbehandelnde Injektion verlief in der Regel reaktionslos. So bei allen Fällen intravenöser Vorbehandlung, während bei 2 von 37 intrakutan vorbehandelten Kindern eine lokale Erstreaktion auftrat. Gerade diese beiden Kinder (Mädchen im Alter von $10^1/_4$ und $7^3/_4$ Jahren, beide vasomotorisch leicht erregbar) boten aber auch, wie erwartet, bei der Reinjektion Reaktionen, die die aller übrigen Kinder an Ausbreitung und Intensität weit übertrafen.

Der in diesen Versuchen angestellte Vergleich intrakutaner und intravenöser Sensibilisierung mit Kaninchenserum zeigt also, daß auf einen sehr geringen intrakutanen Reiz hin die Haut in gleichem, wenn nicht sogar in höherem Grade empfindlich wird als bei gleichhoher intravenöser Applikation des Reizstoffes. So läßt sich vermuten, daß tatsächlich die Haut als Antikörperbildner, wenn auch wohl keineswegs ausschließlich in Frage kommt. Zu bedenken bleibt allerdings, daß bei unserer Versuchsanordnung die Haut mit dem Antigen in jener Konzentration, wie wir sie jeweils zur Injektion verwandten, d. h. relativ konzentriert, in Berührung kam, während bei der intravenösen Applikation das injizierte Antigen erst nach der Verdünnung durch Blut und Säfte des Organismus mit Organen und Geweben in Beziehung treten konnte; die Bedingung für eine Antikörperbildung in der Haut war also in gewisser Hinsicht günstiger. Die Frage, wie weit die Konzentration des Antigens bei der intrakutanen Sensibilisierung von Bedeutung für die Antikörperbildung ist, soll in einer weiteren Arbeit untersucht werden.

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Schließlich wäre es vielleicht nicht völlig undenkbar, daß auch bei intrakutaner Sensibilisierung die Antikörperbildung vornehmlich in den blutbildenden Organen statthat, daß aber vielleicht infolge des Antigenreizes in der Haut die gebildeten Antikörper in stärkerer Menge als sonst in der Haut versammelt werden, um dort mit dem Antigen abzu reagieren. Auch diese Frage bedarf weiterer Untersuchung.

Zusammenfassung.

Bei vergleichender intrakutaner und intravenöser Sensibilisierung des Menschen mit kleinen und kleinsten Serumdosen ergibt sich, daß eine Ueberempfindlichkeit der Haut mindestens mit den gleichen Serumdosen bei intrakutaner wie bei intravenöser Darreichung erzielt wird, ja daß nach intrakutaner Sensibilisierung eine durchschnittlich stärkere Ueberempfindlichkeit der Haut hervortritt, als bei intravenöser.

Literatur.

1) Abelous u. Bardier, zit. nach Doerr, Anaphylaxie und Allergie. (Kolle-Wassermann Hdb. d. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 2. S. 1018.) — 2) Bessau, 1) Verhdl. d. 29. Vers. d. Ges. f Kinderheilkde. Münster 1912. S. 250; 2) Jahrb. f. Khd. Bd. 81. S. 532. — 3) Bloch, Bruno, Stoffwechsel- u. Immunitätsprobleme in der Dermatologie. (Schweizer Korrespondenzbl. 1917. Nr. 39.) — 4) Braun, Münch. med. Wochenschrift. 1909. Nr. 37. — 5) Busson u. Kirschbaum, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. S. 507. — 6) Doerr u. Moldovan, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 5. 1910. Nr. 2 u. 3. — 7) v. Dungern, Die Antikörper. Jena 1903. — 8) Fellander u. Kling, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 15. 1912. S. 409. — 9) Fellner, Ueber Hautimmunität und Tuberkulose. (Sammlg. klin. Vortr. Leipzig J. B. Barth 1919. S. 779/780.) — 10) Friedberger u. Girgolaff, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 9. 1911. Nr. 4. — 11) v. Heinrich, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. S. 421. — 12) Hoffmann, Dtsch. med. Wochenschr. 1919. S. 1233. — 13) Krauss u. Schiffmann, Wien. klin. Wochenschr. 1905. — 14) Müller, E. F., Ueber Reizempfindlichkeit der Haut. (Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 34; Die Haut als immunisierendes Organ. (München. med. Wochenschr. 1921. S. 29.) — 15) Paetsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. S. 255. — 16) Pfeiffer u. Marx, Ztschr. f. Hyg. Bd. 27. 1898. S. 273. — 17) Przygode, Wien. klin. Wochenschr. 1914. Nr. 8. — 18) Richet, siehe Nr. 1. — 19) Römer, v. Gräfes Arch. f. Ophth. Bd. 52. 1901. S. 72. — 20) Wassermann, Berlin. klin. Wochenschr. 1898. S. 209. — 21) Ders. u. Citron, Ztschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905. S. 351. — 22) Ders. u. Leuchs, 4. Tagung d. fr. Vereinig. f. Mikrobiol. S. 74. Berlin 1910.

Nachdruck verboten.

Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik.

[Aus dem Hygienisch-parasitologischen Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

a) Geographische Verbreitung einiger Parasiten.

1) Herpetomonas luciliae Strick von Lucilia caesar, Lausanne. — 2) Distoma endolobum Duj. von Salamandra maculosa, Evouettes, 500 m, Wallis. — 3) Hymenolepis serpentulus Schr. von Garrulus glandarius, Annex, Waadt. — 4) H. pistillum Duj. von Sorex alpinus, Plans s. Bex, 1100 m, Waadt. —

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) H. angulata Rud. von Merula nigra Cully, Waadt. — 6) Davainea tetragona Mol. Huhn. Lausanne. — 7) Choanotaenia infundibuliformis Goeze. Idem. — 8) Taenia crassicollis Rud. von Katze, Orbe. — 9) Ascaris ensicaudata Zed. von Mer. nigra Cully. — 10) Ascaris laevis Leidy von Arctomis marmota Val. de Bagnes, 2400 m, Wallis. — 11) Ascaris spiralis Rud. von Syrnium aluco, Rovéréaz, Lausanne. — 12) Oxysoma brevicaudatum Zed. von Sal. maculosa, Evouettes. — 13) Trichocephalus depressiussculus von Vulpes vulgaris, Truche, 1733 m, Wallis. — 14) Trichosoma obtusum Rud. von Syrn. aluco, Rovéréaz. — 15) Trichos. collare Linst. Huhn, Lausanne. Unter dem Darmepithelium fixiert, hatte er kleine Blutung, Entzündung mit vielen Bakterien und wahrscheinlich den Tod hervorgerufen. — 16) Uncinaria trigonocephala Rud.? von Vulpes vulgaris Truche, Moléson, 2000 m, Freiburg, Catogne, 2000 m, Wallis. Eier in den Stühlen. — 17) Unc. cernua Crep. von ? Cervus capreolus, Arpille, 1500 m, Wallis. Eier in den Stühlen. — 18) Strongylus minutus Duj. von Mus sylvaticus, Tinière, 800 m, Waadt. — 19) Microfilaria sp. Im Blute von Garr. glandularius, Annex. — 20) Spiroptera corvi, Linstow. Idem. — 21) Dermanyssus gallinae De Geer. Junge Hühnchen, Lausanne. Die Tiere waren stark infiziert, speziell unter den Flügeln, und sind wahrscheinlich daran zugrunde gegangen. — 22) Ixodes ricinus L. von Vieh, Rhoneebene, Bellinzona. In diesen Zonen sehr wahrscheinlich Ueberträger der Rinderpiroplasmiasis. — 23) Hypoderma bovis De Geer, an Vieh, Jungenthal, 2345 m, Turtmannthal, 1800 m, Vernazthal, 1274 m (Wallis), Gérinethal, 1200 m, Waadt. — 24) Melophagus ovinus L., Schafe, Lausanne. — 25) Typhlopsylla octactenus Kol. von Fledermaus Sp. Lausanne. — 27) Docophorus cursor N. von Syrn. aluco, Rovéréaz. — 28) Trichodectes climax Nitz., Ziege, Lausanne.

b) Untersuchungen über Phytoparasiten.

1) Kriterien für die Aufstellung einer neuen Mykose. Schon 1917 habe ich bemerkt[1]), daß man bei der Beschreibung neuer Mykosen bei Menschen und Tieren sehr vorsichtig sein muß. Im Eiter einer Fistel am Kniegelenke eines Kindes fanden sich sehr kleine, schwarze Granula von 375—390 μ. Es handelte sich um Oosporen, die mit gelben Sporen von $9 \times 6\ \mu$ ganz gefüllt sind und sich in Kulturen nicht entwickelten. Ein Meerschweinchen, dem Eiter eingespritzt wurde, ging an Tuberkulose zugrunde. Es handelte sich also bei den Oosporen um eine zufällige Infektion der Fistel.

2) Hansenia apiculata Lindner bei Scatophaga stercoraria. Der Darm einer Sc. stercoraria, die ich an der Oeffnung der Höhle eines Murmeltieres (Pas de Cordaz, 2136 m, Waadt) fand, war ganz verstopft mit den zitronenförmigen Zellen eines Saccharomyces, den ich für H. apiculatus halte. Dieser Saccharomycet wurde schon bei Schildläusen und Nonnenraupen als Parasit gefunden[2]).

3) Aspergillosis beim Papagei. Dr. Murisier war so freundlich, mir einen Psittacus erythacus zu schicken, der am 27. Juni 1923 in Nyon zugrunde gegangen war. Die Luftsäcke waren mit käsigem Exsudat gefüllt, das unter dem Mikroskop sehr viele Fäden,

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. S. 267.
2) Kohl, Die Hefepilze. Leipzig 1908. S. 275.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sporen und Hyphen zeigte vom Aussehen eines Aspergillus. In Kulturen entwickelte sich Asp. fumigatus. Da diese Art für Menschen sehr pathogen ist, ist es fraglich, ob infizierte Papageien nicht gefährlich sind.

c) Untersuchungen über Zooparasiten.

1) Didymophyes leuckarti Marshall? Bei 1 von 3 Aphodius obscurus, die ich an der Oeffnung der Höhle eines Murmeltieres (Pas de Cordaz) gesammelt habe, fand ich im Darme ein einziges Exemplar einer Gregarine der Gattung Didymophyes mit folgenden Merkmalen: Protoplasma hellgelb, fein granuliert. Kein bemerkbarer Epimerit. Protomerit ovoid, mit abgerundetem vorderen Ende von $60 \times 20\ \mu$. Deutomerit mit dem hinteren Ende etwas verjüngt, von $300 \times 150\ \mu$. 2 Kerne im vorderen und hinteren Teile. Wahrscheinlich ist diese Gregarine identisch mit D. leuckarti von Aphodius prodromus und A. nitidulus.

2) Nosema graphosomae n. sp. Bei einem Graphosoma italicum vom Vallée de l'Hongrin (120 m, Waadt) habe ich sehr viele Nosema im Darme gefunden. Die Sporen waren eiförmig mit einem etwas verjüngten Ende von $4—5 \times 1,5\ \mu$. Mit Giemsa gefärbt, bemerkte man eine Vakuole an dem abgerundeten Ende und einen Kern. Sie fanden sich in Häufchen und Rosetten.

3) Einiges über Eimeria stiedai Lind. Einige neue Experimente [1]) Meerschweinchen mit E. stiedai zu infizieren, sind resultatlos geblieben. Um zu sehen, ob Fliegen diese Coccidien übertragen können, habe ich einen Brei von Kaninchenleber, die sehr viele Coccidien enthielt, unter eine Glasglocke mit Fliegen gesetzt und nach 6 Tagen die Fliegen untersucht. Im Darme, aber speziell auf dem Körper (Kopf und Beine) habe ich sehr viele sporulierte Coccidien gefunden.

4) Eimeria rupicaprae n. sp. In Lösung von Capella rupicapra (Col de Louvie, 2800 m, Wallis) fand ich zahlreiche Coccidien: Ookysten eiförmig, von $21 \times 16,5\ \mu$, mit einem etwas abgerundeten Ende, während das andere abgeplattet war mit sehr deutlicher Mikropyle. Protoplasmatischer Inhalt wie eine Kugel von $12\ \mu$, dem abgeplatteten Pole sehr nahe. In Wasser gesetzt, haben diese Coccidien 4 Sporen von $6 \times 3\ \mu$ mit je 2 Sporozoiten gegeben.

5) Untersuchungen über Trypanosominae. Eine weiße Ratte, die ich am 14. Jan. 1921 mit Herpetomonas melophagi unter der Haut eingespritzt hatte, ist am 29. März 1922 zugrunde gegangen. An der Injektionsstelle keine Verletzungen und keine Parasiten. Milz sehr vergrößert, mit vielen Leishmania-Formen. Eine weiße Ratte, die mit einem Breie von dieser Milz eingespritzt war, zeigte nach 1 Jahre, als sie getötet wurde, keine Verletzungen und keine Parasiten.

Einen neuen Herd [2]) von Leptomonas davidi Laf. bei Euphorbia gerardiana habe ich zwischen Riddes und Iserables (800 m, Wallis) gefunden. Von 6 untersuchten Pflanzen waren 3 infiziert und von diesen eine mit sehr vielen Leptomonas. Alle waren stark spiralförmig und die infizierten Pflanzen wiesen getrocknete Zweige und Blätter auf. Auf den Pflanzen bemerkte ich sehr viele Stenocephalus agilis. Von 6 untersuchten Insekten hatte ein im Darme Formen

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. S. 345.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. S. 34.

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

multipler Reproduktion und in den Speicheldrüsen sehr kleine Formen mit sehr wenig gefärbtem Protoplasma und kommaförmigem Kern. Diese

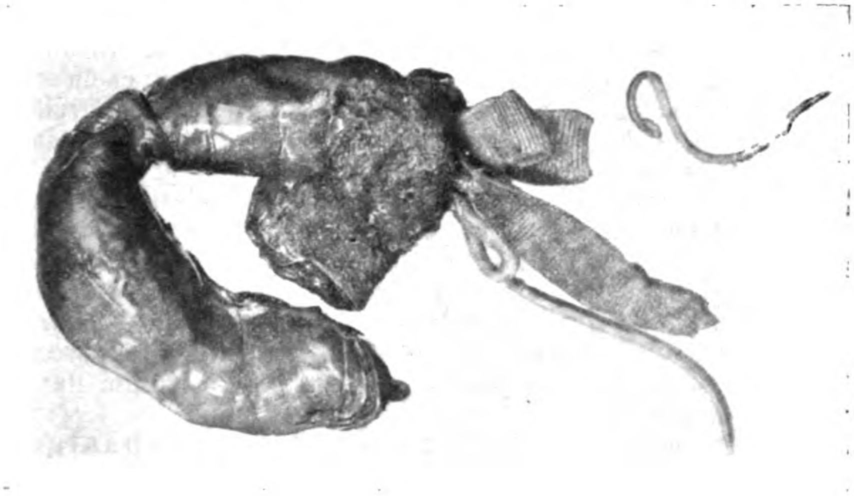


Fig. 1.

Untersuchung spricht immer mehr für die Auffassung von França[1]), daß St. agilis Zwischenträger von L. davidi ist.

Fig. 2.

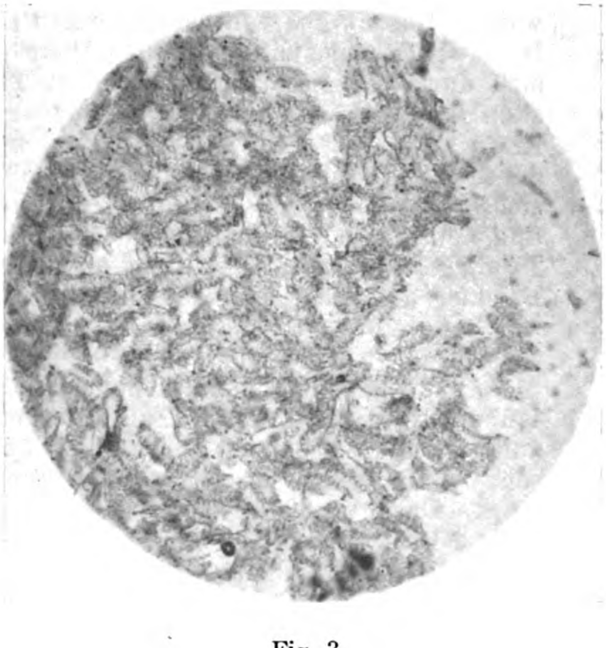


Fig. 3.

6) Ueber einige Darmparasiten von Arctomis marmota. Der Darm eines Murmeltieres von den Halden Sex Percia, 2000 m,

1) Ann. de l'Inst. Pasteur 1920. p. 432.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Waadt, war ganz verstopft mit Ascaris laevis Leidy und Ctenotaenia marmotae Froelich (Fig. 1). Die Weibchen von A. laevis waren 14 cm lang, 4—4½ mm breit, mit etwas zugespitzten Enden, die Männchen 8—8½ cm × 2—2½ mm, mit etwas zugespitztem vorderen Ende, das hintere zugespitzt, hakenförmig gebogen. Eier elliptisch, mit sehr dicker, durchsichtiger Schale mit einem in Buckeln vorspringenden Belage, grün-gelblich gefärbt, 75 × 45 μ. Keine Furchung des Protoplasmas. Die Eier von Ct. marmotae waren 48 μ lang und 39 μ breit mit sehr deutlichem, birnförmigen Apparat von 24 × 15 μ und Embryo von 12 μ. Diese Eier haben sich, in Wasser gesetzt, noch jetzt, nach 7 Monaten, sehr gut konserviert. Neben diesen Würmern fanden sich im Darme auch sehr spärliche Coccidien. Die Ookysten waren eiförmig, mit zwei etwas abgerundeten Enden. Mikropyle sehr deutlich, von 51 × 42 μ. Protoplasma wie eine Kugel, 33 μ, in der Mitte der Schale. In Wasser haben diese Coccidien 4 Sporen mit je 2 Sporozoiten gegeben. Ich schlage für dieses Coccidium den Namen **Eimeria marmotae** vor.

7) Widerstandsfähigkeit der Eier von Dibothriocephalus latus gegen Frost. Am 1. Nov. 1922 habe ich Menschenfäzes, die sehr viele Eier von D. latus enthielten, in Wasser und dann auf das Fenster gesetzt. Das Wasser war ganz zugefroren, aufgetaut und dann nochmals gefroren. Am 29. Jan. 1923 wurde das gefrorene Material ins Laboratorium bei 17°—18° gesetzt, wo sich die Eier sehr gut entwickelt und lebende Embryonen gegeben haben.

8) Infektion mit Demodex folliculorum var. caprae. Bei einer Ziege, die von Saanen stammte, bemerkte ich am Halse einen wahren Rosenkranz von Knötchen von Erbsen- bis Haselnußgröße (Fig. 2). Diese Knötchen hatten in der Mitte einen schwarzen Punkt, aus dem sich durch Zusammendrücken etwas Talg entleerte. Unter dem Mikroskop fand sich eine unzählige Menge von D. folliculorum und ihren Eiern (Fig. 3). Die Demodex waren sehr lichtbrechend mit sehr deutlichen Epimeren, 223 × 60 μ, die Eier elliptisch, mit feiner, durchsichtiger Schale und granuliertem Protoplasma, von 75 × 45 μ. Die ungeheure Menge von Demodex hatte die Ausführungsgänge der Talgdrüsen verstopft und sie zu starker Entwicklung gebracht. Der Besitzer der Ziege hatte an eine Tuberkulose gedacht.

d) Untersuchungen über Tiergeschwülste.

1922—23 hatte ich Gelegenheit, einige Fälle von Geschwülsten bei Hühnern zu sehen. In 1 Fall hatte man es mit einem Carcinom, in 3 anderen mit Sarkom zu tun. Alles waren multiple, knötchenartige Geschwülste von Erbsen-, Haselnuß- und Walnußgröße, speziell am Eierstock, Darm und der Peritonealserosa. In 1 Fall habe ich nur einen Hühnerkopf bekommen und daran eine sarkomatöse Geschwulst von Uebernußgröße an dem rechten Kehllappen lokalisiert gefunden. Leider konnte ich keine Experimente machen, um festzustellen, ob man es mit filtrierbarem Virus von einem Sarkom zu tun hatte.

e) Parasitologische Technik.

Untersuchung von Eiern und Coccidien in Fäzes. Die Technik von Fülleborn erwies sich als sehr einfach, praktisch und sicher: Ein Teil der Fäzes wurde mit 20 Teilen einer Lösung von 35,7 g Kochsalz und 100 g Wasser in einen Erlenmeyer-Kolben gebracht,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gut gemischt und dann 5 Min. bis $^3/_4$ Std. stehengelassen. Mit einer Pipette wurde das oberflächliche Wasser entnommen und unter dem Mikroskop untersucht. Auch mit dieser Methode habe ich sehr gute Resultate erzielt bei der Untersuchung von Coccidien und Eiern von Ascaris und Uncinaria. In 1 Falle, wo die direkte Untersuchung nur 1 Ei zeigte an je 7—8 Präparaten, wurde mit dieser Methode ein Ei in jedem Präparat gefunden.

Nachdruck verboten.

Ein neues Verfahren zur Anaërobenzucht.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen (Direktor: Prof. Dr. E. Gotschlich).]

Von Prof. Dr. **O. Huntemüller.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

Die bisherigen Verfahren zur Züchtung von Anaëroben sind wenig ideal, was schon daraus hervorgeht, daß immer neue Züchtungsmethoden auftauchen. Im folgenden möchte ich nun ein Verfahren angeben, das die früheren Mängel beseitigt und sich, wie ich hoffe, infolge seiner Einfachheit und Billigkeit, denn diese ist in der heutigen Zeit besonders zu berücksichtigen, in der bakteriologischen Praxis einbürgern wird. Es beruht auf der Kombination der Verdrängung des Sauerstoffes durch ein anderes Gas und der Züchtung im luftverdünnten Raume.

Zu diesem Zwecke wird eine beimpfte Petri-Schale (*P*) in einen Apparat (Fig. 1) eingespannt, der dazu dient, die Schale auf eine Glasplatte (*G*) vermittels eines Gummiringes, wie er beim Weckschen Einkochverfahren Verwendung findet, luftdicht anzupressen. Man muß darauf achten, daß die Petri-Schale am Rande gut plan geschliffen und nicht ausgesprungen ist, weil sonst kein luftdichter Abschluß entsteht. Nötigenfalls lassen sich kleine Unebenheiten durch Plastilin beseitigen. Die Schale wird durch kleine Federn soweit von der Glasplatte abgehoben, daß Luft ab- und zuströmen kann. Der Apparat wird darauf in eine luftdicht schließende Vakuumglocke gebracht; die Bedienung des Apparates von außen wird dadurch ermöglicht, daß die Antriebwelle (*A*) luftdicht aus der Glocke herausgeführt ist. Jetzt wird die Luft aus der Glocke bis etwa zu einem Unterdruck von 500–600 mm Quecksilber durch eine Wasserstrahlpumpe abgesogen, was durch ein eingeschaltetes Manometer leicht festzustellen ist, und durch Einleiten von Wasserstoff, Stickstoff oder Leuchtgas ersetzt. Durch mehrfaches Absaugen- und Zuströmenlassen (Zweiwegehahn) des Gases wird der Sauerstoff aus der Glocke entfernt.

Der Sauerstoffgehalt in der Glasglocke läßt sich leicht berechnen. Die atmosphärische Luft enthält etwa 21 Proz. O; verdünnen wir sie bei einem Außendruck von 750 mm in der Glasglocke um 600 mm, also um $\frac{600}{750} \cdot \frac{4}{5}$, so bleibt noch $\frac{1}{5}$ der Luft zurück und darin $\frac{21}{5} = 4{,}2$ Proz. Sauerstoff. Wird jetzt Wasserstoff zugeleitet und darauf nochmals um

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

600 mm Quecksilberdruck evakuiert, so erhalten wir $\frac{4,2}{5} = 0,84$ Proz. O usf. Es läßt sich also jede gewünschte Sauerstoffverdünnung herstellen.

Bei einem Unterdruck von etwa 250 mm Quecksilber — nicht zu hoch, da sonst die Petri-Schale platzt — wird alsdann die Schale vermittels der Schraubenwelle fest auf Gummiring und Glasplatte angepreßt. Man muß kräftige Schalen verwenden, da die jetzt in den Handel ge-

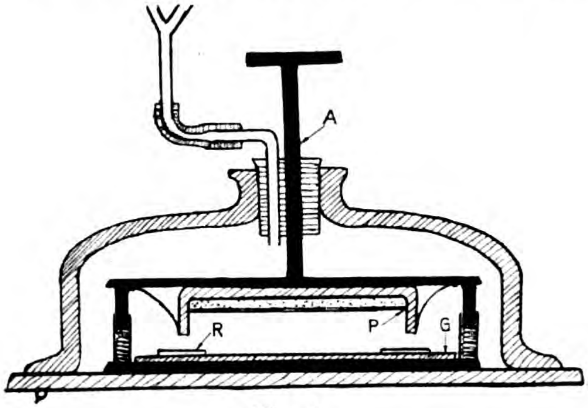


Fig. 1.

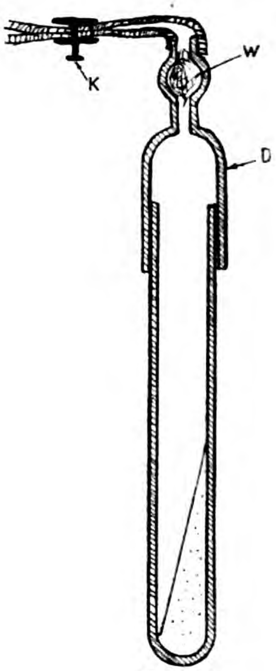


Fig. 2.

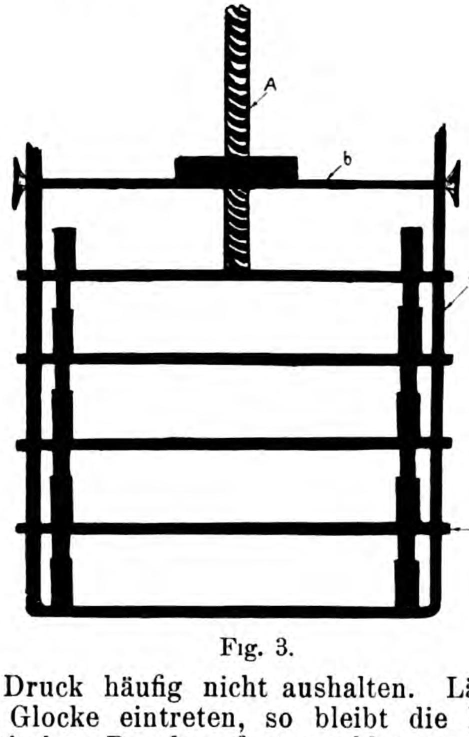


Fig. 3.

Fig. 4.

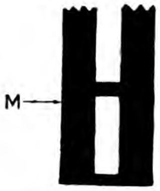


Fig. 5.

brachten den Druck häufig nicht aushalten. Läßt man nämlich wieder Druck in die Glocke eintreten, so bleibt die Petri-Schale vermöge des atmosphärischen Druckes fest geschlossen und kann aus der Glasglocke in den Brutschrank und unter das Mikroskop gebracht werden, ohne daß Sauerstoff hineingelangen kann.

Soll die Petri-Schale, nachdem die Anaëroben gewachsen sind, geöffnet werden, so läßt man, wie beim Weckglase, durch Anziehen des Gummiringes Luft eintreten.

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Diese Anordnung gilt, wenn es sich um eine einzelne Platte handelt. Man kann aber auch mit mehreren Platten gleichzeitig in dieser Weise verfahren. In diesem Falle benutzt man, je nach Bedarf, mehrere derartige Apparate, die durch Aufeinanderstellen zu einem einzigen vereinigt werden (s. Fig. 3). Es ist alsdann ratsam, den Druck durch eine Schraubenwelle (*A*) auszuüben, die ihr Gewinde in einem Bügel (*b*) hat, der an den Führungsständer (*f*) in der gewünschten Höhe festgeschraubt werden kann. Die einzelnen Teilapparate sind in senkrechter Richtung verschieblich und werden durch Federn (Fig. 4) auseinandergehalten. Ihre seitliche Abweichung wird durch eine Führungsnute (*M*) gehindert (Fig. 5).

Die Petri-Schalen werden mit Klammern befestigt, die sich, je nach der Größe der Schalen, die etwas variiert, einstellen lassen.

Bei Verwendung mehrerer Platten wird die in Fig. 1 abgebildete Glasglocke auf eine oben plan geschliffene Glasschale aufgesetzt, die der Zahl der verwendeten Teilapparate entsprechend groß sein muß. Die Abdichtung geschieht, wie üblich, mit Talg. Der weitere Vorgang ist der gleiche wie oben beschrieben.

In ähnlicher Weise kann man auch bei der Züchtung im Reagenzglase verfahren (s. Fig. 2). Man verwendet hierzu Reagenzgläser mit übergreifendem Glas (*D*), ähnlich wie sie u. a. von Fornet angegeben sind. Das Glas ist eingeschliffen und trägt einen Ansatz mit einer kugeligen Erweiterung zur Aufnahme von Watte. Die Abdichtung wird an der Berührungsfläche der beiden Gläser durch Fett, an dem Ansatzrohr durch einen mit Klemme (*K*) versehenen Gummischlauch erreicht.

Das beimpfte Röhrchen wird zur Herstellung von anaëroben Verhältnissen zunächst mittels Gummischlauches mit einem Zweiwegehahn verbunden, der einerseits mit einer Wasserstrahlpumpe, andereresits mit einem Kippschen Apparat etc. in Verbindung steht. Auch in diesem Falle muß man erst evakuieren und dann das Gas einleiten und darauf noch einige Male absaugen und Gas zuströmen lassen, bis der Sauerstoff so gut wie vollständig entfernt ist. Alsdann wird das Röhrchen durch die Klemme verschlossen und kann in den Brutschrank gebracht werden.

Mehrere derartiger Reagenzglaskulturen lassen sich auch wieder gleichzeitig auf diese Weise behandeln, wenn man sie nebeneinander an einen Zweiwegehahn anschaltet.

Man kann auch im Notfall ohne diese Apparate auskommen, wenn man, wie ich zuerst bei meinen Versuchen vorging, einen Stab luftdicht, aber beweglich durch den Gummistopfen einer Saugglocke durchführt und daran die Petri-Schale mittels Plastilin befestigt. Durch Druck von oben kann alsdann die Petri-Schale auf die Unterlage (Glasplatte mit Gummiring) angepreßt werden. Auch bei der Reagenzglaskultur kann man die Glashaube durch einen Gummistopfen ersetzen, durch den ein Glasrohr luftdicht durchgeführt ist. Bei häufigerem Gebrauch werden sich aber die oben beschriebenen Apparate bezahlt machen. Zu beziehen durch die Apparatebau-A.-G. Gießen, Schiffenbergerweg.

Die Vorzüge des neuen Verfahrens sind Einfachheit und Billigkeit; es gestattet ein völlig steriles und sauberes Arbeiten und die jederzeitige Beobachtung der Kulturen unter dem Mikroskop.

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber eine verbesserte Optik der Ausflockungsreaktionen und die Technik der serologischen Reaktionen im allgemeinen.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Amsterdam (Direktor: Prof. Dr. R. H. Saltet).]

Von Fräulein **M. van Riemsdijk,** Assistentin.

Mit 26 Abbildungen im Text.

Nur stätige Uebung ermöglicht es, feine Ausflockungen bis an die Titergrenze zu verfolgen, und wir alle wissen, daß diejenigen, welche große Affinität zur Farbe und zum Kontrast besitzen, derartige Reaktionen besonders genau ablesen können, und daß selbstverständlich individuelle Unterschiede bei der Beobachtung vorkommen.

Die für diese Reaktionen gebrauchten Röhren bestehen aus dünnem Glas, denn um die Flocken gut sehen zu können, muß die Durchsichtigkeit des Glases so groß wie möglich sein, weswegen auf dünne Glaswand in erster Linie Wert zu legen ist. Der Boden der Röhren ist entweder rund oder trichterförmig und der „Besatz" bei den letzten Röhren besser zu sehen.

Durch die Mikromethode von Wright, bei der man seine Röhre selbst anfertigt, wird die Glaswand etwas dicker gewählt ($^3/_4$—1 mm). Eine optische Erklärung hierfür habe ich in dem Buche Wrights nicht finden können, glaube aber, daß die Empfehlung nur des leichteren Bearbeitens in der Blasflamme durch Ungeübte und der geringeren Zerbrechlichkeit wegen erfolgt ist.

Von welcher besonderen Wichtigkeit die richtige Dicke der Glaswand für die genaue Beobachtung der feinen Flocken ist, zeigen die folgenden Versuche:

Fig. 1 zeigt das dünnwandige Rohr *A* ($^1/_2$ mm Wanddicke) und daneben ein dickwandiges Rohr *B* ($1^1/_2$ mm Wanddicke), beide auf einen kleinen Glasfuß montiert. An den gleichen Stellen wurde mittels Kanadabalsam ganz gleich großes und rundes Schrot angeklebt. Bei genauer Beobachtung zeigen sich die Kügelchen bei *A* etwas mehr abgeplattet, als diejenigen bei *B*; das hintere Kügelchen von *B* ist etwas größer geworden als bei *A*. Man sieht genau die dickere Glaswand von B, bei der schräg angeklebten Kugel, wo der Ansatz wohl 3mal weiter von der Kugel selbst entfernt zu sein scheint als bei derjenigen von *A* (Fig. 1, 2).

Ohne etwas an den Röhren zu ändern, wurde jetzt physiol. NaCl-Lösung mittels Pipette bis auf gleiche Höhe eingegossen. Fig. 2 spricht sehr zugunsten von Rohr *B'*, wo die Schrägkugel wohl 2mal größer geworden ist als die von *A'*. Bei sehr genauer Beobachtung (Abmessen) zeigt sich aber, daß die Schrägkügelchen von *A'* ein wenig kleiner als diejenigen von *A* geworden sind, was bei den winzigen Flocken einen ziemlich großen Rückgang bedeutet. — Die Kugel der Hinterwand des Rohres *A'* hat dieselbe Größe wie die von *B'*; die größere Wassersäule nimmt hier den Platz der dicken Glaswand von *B'* ein. Diese Vergrößerung findet sich aber bei dem Rohr *A'* nur in transversaler

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Richtung, bei dem Rohr B' aber auch in sagittaler, wodurch sich die Kugel im Lumen des Rohres viel mehr hervorwölbt, also in sagittaler Richtung sehr vergrößert ist.

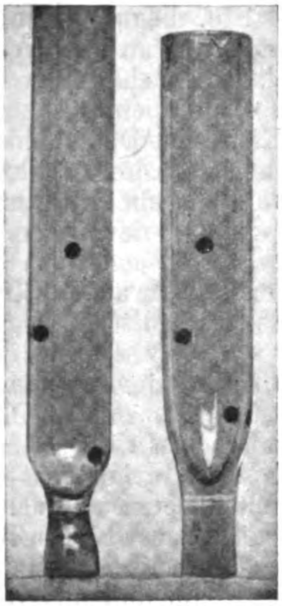


Fig. 1.

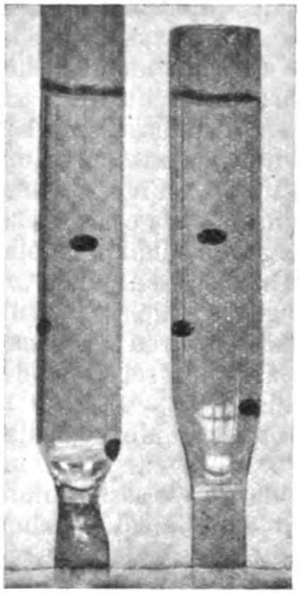


Fig. 2.

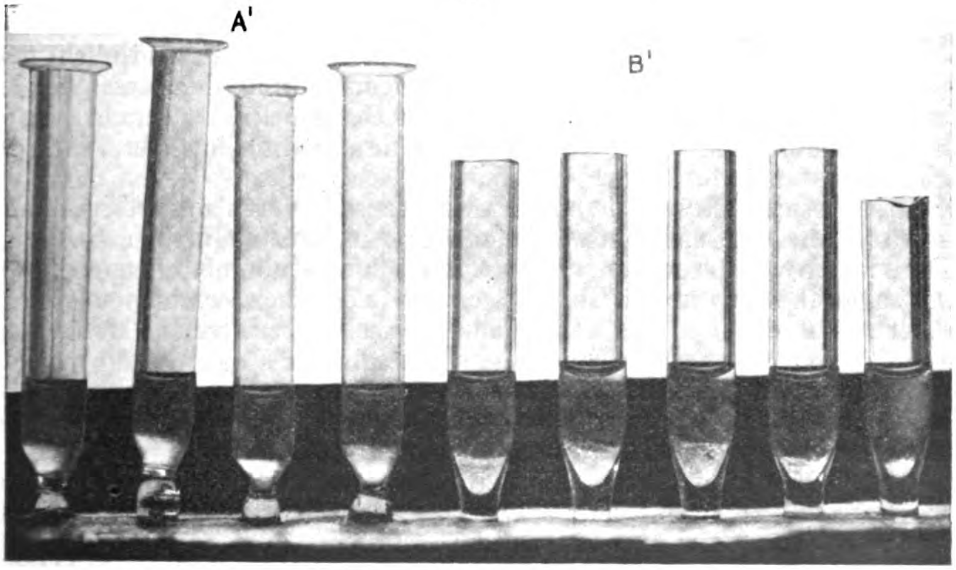


Fig. 3.

Leider ist auf der photographischen Platte die viel größere „Farbechtheit" der B-Böhren nicht genügend hervorgetreten: Während die ursprünglich schwarzen Kügelchen in den A-Röhren nach Zusatz der Flüssigkeit grau und unscharf konturiert waren, sahen die B'-Kügelchen leuchtend schwarz und scharf umrissen aus. Genau so verhielt es sich

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

mit den Agglutinationsproben, wo Rohr *A'* nebelige, gräuliche, Rohr *B* größere, leuchtend weiße und scharf konturierte Flocken zeigten.

Da es hier leider nicht möglich war, den Ausflockungsversuch im Anfang der Reaktion (feiner Flockenregen) zu photographieren, habe ich mich mit einer Photographie nach 24 Std. begnügen müssen, wo die Flocken sich etwas mehr am Boden abgesetzt hatten (Fig. 3).

Fig. 3 gibt davon ein schönes Beispiel, das auch wieder zugunsten der *B'*-Röhren spricht. Sie zeigt in alten Röhren eine Agglutinationsreaktion von Typhusserum 1 : 10000 + Fickers Diagnostikum. Das kleinste *B*-Rohr dient zur Kontrolle; in ihm sind die Bazillen auf den Boden gesunken. Fig. 2 gibt also im *B'*-Rohr ein vergrößertes, kugeliges, in die Breite gezogenes Bild infolge der Dicke der Glaswand, *A* dagegen sieht abgeplattet aus.

Prof. Dr. P. Zeemann, Professor der Physik an der Universität, hatte die große Liebenswürdigkeit, mir die optische Eigenart des *B*-Rohres zu erklären: Dieses wirkt wie eine Zylinderlinse, wodurch ein astigmatisches Bild entsteht mit Verlängerung im horizontalen Meridian.

Diese optische Merkwürdigkeit nachzuahmen, ist mir auf ganz einfache Weise gelungen. Legt man einen Kreuzer in eine Petri-Schale und gießt darauf Wasser und sieht von oben herab auf den Kreuzer, so erscheint das Geldstück rund und von normaler Größe. Blickt man aber durch den aufstehenden Rand der Schale und das Wasser hin, so erscheint der Kreuzer vergrößert und in die Breite gezogen. Legt man aber den Kreuzer so hin, daß er ± 1 cm vom Schalenrand entfernt ist, und blickt man wieder durch den aufstehenden Rand und das Wasser hin, so erscheint das Geldstück jetzt gerade gegen den Rand der Schale zu. Die Wassersäule nimmt hier den Platz der dicken Glaswand des Rohres *B* ein.

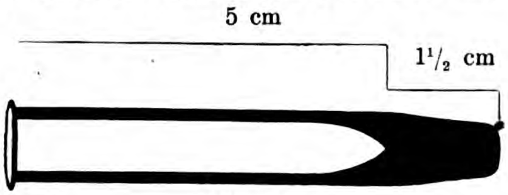


Fig. 4.

Mit diesen *B*-Röhren habe ich viele Widal-Versuche unternommen. Es tritt nicht nur das erste Zeichen der Ausflockung in den *B*-Röhren viel früher ein, sondern man bekommt auch schön ablaufende Skalen, zwar auch bei schwachen Reaktionen. Die Flocken erscheinen so vergrößert, daß die Titergrenze genau und scharf zu treffen ist und ich diese Röhren deswegen wirklich empfehlen kann.

Sie werden jetzt auf folgende Weise hergestellt: Benutzt werden Biegeröhren von Thüringer Glas von **mindestens 1½ mm** Wanddicke und einem Durchmesser von 10 mm (Fig. 4).

Fig. 4 gibt eine genaue schematische Zeichnung des B-Rohres, das da, wo das Glas massiv ist, schwarz gemacht ist. Das Rohr wird aus einem Stück Glas gemacht und so ausgezogen, daß das Rohr trichterförmig wird und auch der „Glasfuß" entsteht. Letzterer ist 1½ cm lang und hat einen Durchmesser von 5½ mm. — Das Wesentliche dieser Röhren liegt also in: 1) der Dicke der Glaswand, welche für die Vergrößerung der Flocken sorgt, 2) dem „Glasfuß", der optisch von großer Wichtigkeit ist, weil die sonst sehr hinderliche Brechung des Lichtes, welche immer entsteht, wo das Glas gebogen ist, durch ihn fast ganz verschwindet. — Fig. 3 zeigt diese starke Lichtbrechung bei den *A*-Röhren, während sie bei den *B*-Röhren aufgehoben ist; entfernt man den Glasfuß, so tritt sie bei den *B*-Röhren auch wieder hervor.

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die große „Farbechtheit“ dieser Röhren und das Wegfallen dieses hinderlichen Lichtreflexes ermöglichen die Benutzung weniger trüber Suspensionen. Das Fickersche Diagnostikum kann deswegen sehr gut 1mal mit physiol. NaCl-Lösung verdünnt werden.

Das Aufstellen der Röhren wurde anfangs durch den „Glasfuß“ erschwert, und ich bin daher glücklich, diese Schwierigkeit ganz überwunden und damit noch eine bedeutende Verbesserung der optischen Aufstellung erreicht zu haben, indem ich die Röhren in Gestelle aus Naturkork (keine komprimierte Korke) stellte. Zu diesem Zwecke läßt man sich Korkbretter von 22 cm Länge, 6 cm Breite und 2 cm Dicke schneiden, in deren Oberflächenmitte runde Löcher von geringerem Durchmesser als der Glasfuß 2 cm vom Rande gebohrt werden in einem Zwischenraum von 1 cm zwischen 2 Löcher. Man erhält 1 cm tiefe Löcher. Die während des Bohrens nicht herauskommenden Korkstücke muß man mittels einer Pinzette herausziehen. An der Hinterwand des Korkbretts wird dann mit kleinen Nägeln ein dünnes Holzbrett von 4 cm Höhe angebracht, das also 2 cm besteckt und auf die 2 Vorderecken werden 2 kurze dicke Glasstäbe mit Knopf in ein zu kleines Loch geklemmt, welche als Griff dienen (siehe Fig. 21).

Die Löcher (von innen), die dahinter liegende Korkoberfläche und das Holzbrett werden mittels „Schulwandtafelfarbstoff“ matt schwarz angestrichen, während der vor den Löchern liegende Teil mit „Ripolin“ glänzend weiß (einige Male) gestrichen wird, so daß man auf dem „weißen“ Teile mit Tinte leicht schreiben und das Schreiben wieder bequem abwaschen kann (Notizen).

Da der Kork wenig nachgibt, dehnen sich die Löcher wenig aus und die Röhren werden recht festgehalten, und zwar auch nach längerem Aufenthalt bei höheren Temperaturen.

Durch den Kontrast von Weiß-Schwarz bekommt man eine so günstige optische Aufstellung, daß dadurch die Versuche sehr an Deutlichkeit und Schärfe gewinnen.

Diese *B*-Röhren lassen sich leicht herstellen und sind wenig zerbrechlich sowie sehr bequem zu reinigen; man kann sie dabei auch im Korkgestell lassen und sie so unter dem Wasserstrahl spülen (Pasteursche Pipette an einem Schlauch an dem Wasserhahn) und läßt das ganze umgekehrt auf Filtrierpapier trocknen.

Diese Röhren sind nicht nur an ihrem Platze, wo „Ausflockungen“ beobachtet werden sollen, sondern auch der Farbechtheit wegen auch da, wo die feinsten Farbennuancen studiert werden sollen.

Im ersten Falle werden die Röhren in den weiß-schwarzen Kork gestellt, bei durchfallendem Lichte beobachtet, für Farbreaktionen aber in ganz weißen Korkgestellen und bei auffallendem Lichte.

Das jetzt übliche Bestreben, mit den kleinst möglichen Flüssigkeitsmengen bei serologischen Reaktionen zu arbeiten, hat auch seine Nachteile, und es kann dabei zu einer falschen Sparsamkeit kommen: Die kleinste Gesamtflüssigkeitsmenge pro Röhrchen darf nicht niedriger werden als $^1/_4$ ccm, wovon $^1/_{10}$ Teil Serum ist, also $^1/_{40}$ ccm, ein ganz kleiner Serumtropfen, welcher bequem nach der Wrightschen Methode dem Finger oder Ohrläppchen entnommen werden kann. — 1917 ist von mir eine neue serologische Pipette hergestellt worden, welche man sich selbst leicht anfertigen kann und welche das Arbeiten mit kleineren und größeren Flüssigkeitsmengen ermöglicht, ohne damit die Berechnung zu ändern.

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Pipette ist im Laufe der Jahre ein wenig modifiziert worden, weswegen ich sie hier näher beschreiben will: Ich habe dieses neue Instrument hergestellt, weil die „throttled Pipet“ von Wright große technische Schwierigkeiten bietet und die „Tropfpipette“ ungenau ist, weil die Tropfengröße sich ändert nach:

1) der verschiedenen Viskosität der Flüssigkeiten, 2) dem schnellen oder langsamen Ausfließen der Tropfen, 3) dem verschiedenen Stande, in dem die Pipette während des Tropfens gehalten wird, 4) die Pipette voll oder fast leer ist (größere oder kleinere Flüssigkeitssäule, welche einen stärkeren oder schwächeren Druck ausübt), und 5) ein Gummischlauch zum Auspressen der Flüssigkeit angewendet wird, wodurch

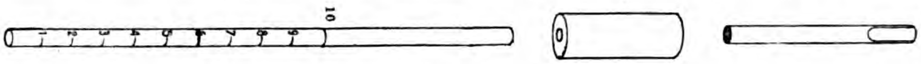


Fig. 5.

Fig. 6.

ein leichtes Auspressen von Luft zugleich mit der Flüssigkeit ermöglicht wird.

Ich persönlich möchte noch die Unannehmlichkeit hervorheben, mit der das permanente Zählen bei der Tropfmethode verbunden ist.

Bei den in Fabriken hergestellten Pipetten, bei denen 1 ccm in 10 oder 100 Teile geteilt ist, muß man die Berechnung der Verdünnungen immer ändern, wenn man einmal mit ziemlich viel, einmal mit sehr wenig Flüssigkeit arbeitet, weil man sich immer nach einem bestimmten Volumen zu richten hat, nämlich den Kubikzentimetern. Ich bin der Ueberzeugung, daß diese neue Pipette nur die Vorteile der Wrightschen hat (Selbstanfertigen, Arbeiten mit Volumeinheiten), ohne aber die Nachteile derselben zu besitzen. In kurzen Zügen möchte ich daher hier die Anfertigung und den Gebrauch der Pipette schildern (Fig. 5).

Art des Glases: Biegeröhren von 4—5 mm Diameter; Wanddicke 1 mm. **Anfertigen der Pipette:** 1) Die Pipette ist 15 ccm lang (Abbrechen vom Glasrohr); 2) beide Mündungen werden mit Watte verschlossen und die eine Mündung wird genau auf folgende Weise geschliffen: auf eine dreikantige Feile wird etwas Oel gebracht, die Pipette auf den Tisch gelegt und mit der Feile der Mündung entlang gestrichen, bis sie schön gerade und glatt geworden ist; 3) mit feinem Toilette-Bimsstein (eigentlich einer Art Sandstein) (Fig. 6) wird die Pipette dann „matt“ gemacht, indem man damit der ganzen Pipette entlang streicht, bis sie vollständig matt geworden ist, worauf die Mündung nochmals nachgeätzt wird, wozu man die Pipette mit der Mündung vertikal auf dem Stein rund dreht.

Die Kalibrierung: 4) Die Pipette wird jetzt in 10 Teile von 1 cm Entfernung graduiert, wozu ein Maßstab der Pipette entlang gelegt wird. Dabei ist darauf zu achten, daß der erste Strich des Maßstabes genau dem Rande der Mündung entspricht, worauf auf jedes Zentimeter mit Bleistift ein deutlicher Strich gesetzt wird, bis man 10 von diesen Teilen hat (der Bleistift bleibt in Wasser und Alkohol). Die Teile sind bei der Kürze des Glasrohres vollkommen gleich. Kontrolle durch Hinaufgleiten eines Teilchens Wasser.

Die Unterteile: 5) Ein $4^1/_2$ cm langes Stück guten elastischen „Saugschlauches“ (dickwandig) wird um das Pipettenende geklemmt (es muß genau schließen); 6) das $5^1/_2$ cm lange „Mundstück“ wird von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

demselben Rohr hergestellt und die Mündung auf dieselbe Weise (siehe 2—3) sauber und glatt gemacht. In das Ende des Mundstückes wird ein kleiner, dünner Wattebausch eingeschoben; 7) jetzt werden die 3 Pipettenteile ineinander geschoben (Serumpipette); 8) aus einem kleinen Maßglas (3 oder 5 ccm), bei dem die Kubikzentimeter in Zehntel geteilt sind, werden mittels der Pipette genau $^{5}/_{10}$ ccm herausgenommen, die Pipette „vertikal" gehalten und da, wo die Flüssigkeit aufhört, ein deutlicher Strich mit Bleistift gemacht. Da diese die immer gebrauchte Flüssigkeitsmenge (2mal) zur Lösung des festen Serums ist, braucht man dafür keine besondere Pipette mehr (Fig. 7).

Pipette für die „lebendige" Bazillensuspension (Suspensionspipette). Arbeitet man mit „lebendigen" Bazillen (Typhus usw.),

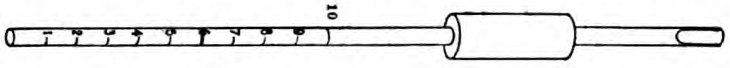


Fig. 7. Serumpipette.

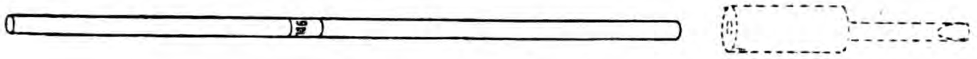


Fig. 8. Suspensionspipette.

Fig. 9.

wobei vorher die Pipette energisch desinfiziert werden muß, so empfiehlt es sich, eine 2. Pipette herzustellen, welche viel weniger kalibriert zu sein braucht, aber etwas länger ist.

Von demselben Rohr kann man sich mehrere von diesen Pipetten herstellen, wenn man mit verschiedenen „lebendigen" Suspensionen zugleich zu arbeiten hat, oder man desinfiziert die Pipette zwischen 2 Reaktionen; 9) von demselben Glasrohr werden 20 cm abgenommen; 10) die Mündung wie bei 2 und 3 behandelt; 11) Kalibrierung nur bei 1 und 10 (nur an diesen Stellen wird „matt" gemacht); 12) die Pipette ist vor dem Gebrauch entweder in Kautschuk und Mundstück von „Serumpipette" zuklemmen, oder selber von diesem Apparat zu versehen.

Beide Pipetten werden **ohne** Kautschuk und Mundstück in einem Rohr mit 96-proz. Alkohol (gut verschlossen) aufbewahrt, um sie gleitend zu halten (Fig. 8).

Einige Ratschläge für den Gebrauch der graduierten serologischen Pipette: die Pipette wird aus dem 96 proz. Alkohol genommen, wonach **das Ausspülen und Reinigen der Pipette** erfolgt:

I. Man hält die Pipette in der linken Hand und zieht mit der rechten den Gummi vom Mundstück ab (Fig. 9); II. man hält die Pipette vertikal unter den Wasserstrahl und das äußerste Ende derselben in die Mündung des Hahnes, läßt das Wasser dann tüchtig durchlaufen und setzt das Gummimundstück in derselben Weise wieder auf die Pipette; III. man entfernt das zurückgebliebene Wasser durch Blasen und die allerletzten Flüssigkeitsteile durch energisches Schütteln (Ausschlagen) und läßt die Pipette jedesmal vertikal auf Filtrierpapier abtröpfeln, worauf sie von außen mit Filtrierpapier abgerieben wird.

Das Abhebern und Herauflaufen von den Pipettenteilchen:

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

IV. man hält das Agglutinationsröhrchen schräg in der linken Hand;
V. bringt die Pipette in die Flüssigkeit und hebt, indem man das

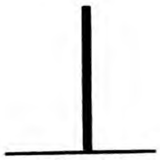


Fig. 10.

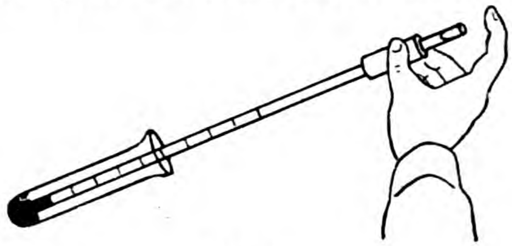


Fig. 11.

Röhrchen ein wenig mehr horizontal richtet, die gewünschte Quantität in die Pipette, worauf die Pipette von oben mit dem Zeigefinger abgeschlossen wird (Fig. 11).

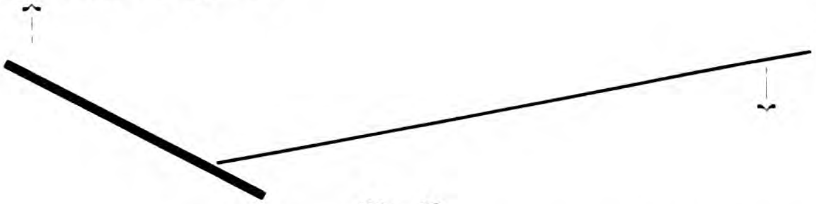


Fig. 12.

Läuft zu viel Flüssigkeit hinein, so zieht man die Pipette etwas in die Höhe, wobei darauf zu achten ist, daß das äußerste Ende mit der

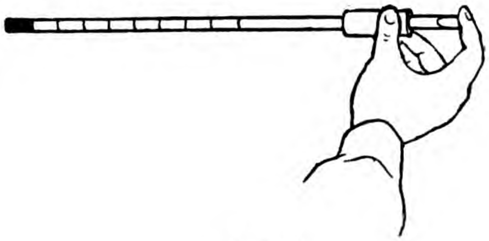


Fig. 13.

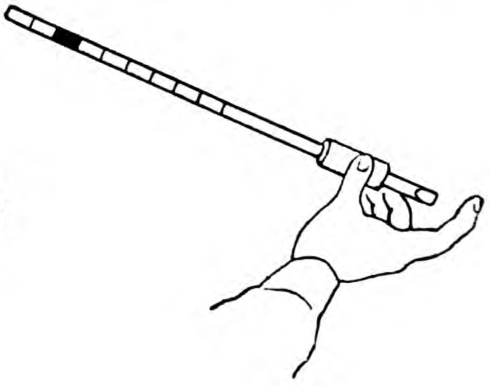


Fig. 14.

Wand des Röhrchens in Kontakt kommt; die Flüssigkeit läuft auf diese Weise wieder heraus. Ist wenig Flüssigkeit im Röhrchen, so bringt man die Pipette erst in die Flüssigkeit und zieht sie längs der Wand des Röhrchens nach außen bis nahe an die Mündung des Röhrchens, worauf man sozusagen die Flüssigkeit in die Pipette gießt. Die allerletzten Tropfen werden herausgebracht durch Aussaugen vom Mundstück aus (Fig. 13).

VI. Wende jetzt die ganze Pipette um (das Mundstück nach unten), nehme den Zeigefinger weg und lasse das Teilchen zirka 1—2 Teilchen weiter herauflaufen, worauf oben wieder mit dem Zeigefinger abgeschlossen wird (Fig. 14).

Auf diese Weise kann man auch verschiedene Teilchen nacheinander einhebern, und zwar jedesmal 1 Teilchen entweder mit einem Teilchen

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

oder mehr Luft dazwischen (Fig. 15), oder die Teilchen werden aneinanderschließend eingehebert (Fig. 16), welch letzterem ich den Vorzug gebe.

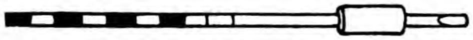


Fig. 15.

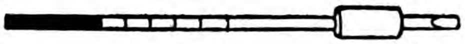


Fig. 16.

Erfolgt das Hinauflaufen schwer, so hat dies zwei Gründe: 1) entweder ist der Wattepfropfen im Mundstück viel zu steif, oder 2) die Pipette von innen nicht genügend geschmiert, so daß sich ein Widerstand im Kanal (Fett, NaCl-Kristalle. Sandsteinabschabsel) usw. findet. Hierauf muß die Pipette mit verdünntem Alkohol und nachher tüchtig mit Wasser durchgespült werden, worauf man etwas gewöhnliche Bouillon durchlaufen und jedesmal einige Teilchne in die Pipette hin- und hergleiten läßt, bis diese schnell und bequem durch das Pipettelumen gehen.

Kleben an der Wand kleine Kristalle, so bewährt es sich ausgezeichnet, mit einer stählernen Stricknadel hin und her durch das Pipettenlumen zu reiben und danach zu spülen.

Bevor man mit der eigentlichen Reaktion anfängt, überzeuge man sich erst davon, ob die Wasserteilchen leicht und schnell im Lumen auf- und niedergleiten.

Das Abhebern der Salzsolution: VII. Für das Abhebern von größeren Flüssigkeitsquantitäten tauche man die Pipette in das Rohr (halte dieses schräg), nehme den Zeigefinger von oben ab und lasse jetzt die gewünschte Quantität einlaufen; je mehr Flüssigkeit, desto tiefer muß die Pipette in die Salzsolution getaucht werden. Durch Senken des Rohres kann die Flüssigkeit bequem in das Rohr hineinlaufen (Fig. 17).

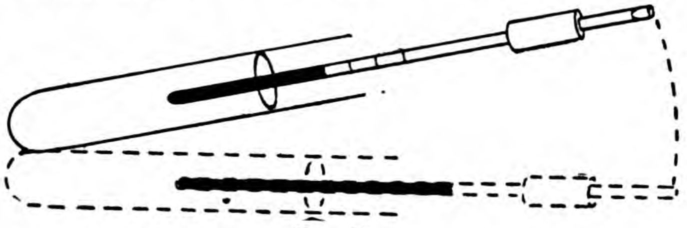


Fig. 17.

Bei dem Herausnehmen der Pipette lasse man diese dem Rande der Röhrchenmündung entlang gleiten, um die Flüssigkeitstropfen aufzusaugen, welche von außen an der Pipette hängen geblieben sind. Reibe die Pipette dann von außen mit Filtrierpapier ab. Für VII. kann man auch sehr gut die Agglutinationsstülpe von Müller gebrauchen.

Das Herauslaufen der abgesonderten Pipettenteilchen: VIII. Man bringt die von oben mit dem Finger abgeschlossene Pipette bis zum Boden des schräg in der Hand gehaltenen Agglutinationsröhrchens, worauf die Flüssigkeit abläuft, und ziehe jetzt ein wenig zurück, damit immer ein wenig Kontakt mit der auslaufenden Flüssigkeit besteht, die dann von der Pipette abgehebert wird. Das letzte Tröpfchen, ein $^1/_2$ Teilchen, der Kapillarität der Pipette entsprechend, muß ausgeblasen werden (Fig. 18).

Man kann aber auch die Röhrchen im Gestelle stehen lassen, die Pipette in das Röhrchen bringen, die Mündung schräg gegen die Röhrchenwand halten und die Teilchen auf diese Weiseabfließen lassen (Fig. 19).

Immer ist es empfehlenswert, stets etwas mehr (z. B. 1 Teilchen) Flüssigkeit in die Pipette zu hebern, als unbedingt nötig ist, da auf diese Weise die Kapillarität der Pipette keine Schwierigkeiten macht.

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Es bleibt auf diese Weise zwar etwas Flüssigkeit an der Glaswand hängen, diese wird aber von der Bazillensuspension abgespült, so daß kein Fehler gemacht wird.

Das Ausblasen: IX. Muß man doch die letzten Flüssigkeitstropfen aus der Pipette blasen, so braucht man nicht das Mundstück in den Mund zu nehmen, sondern es genügt, dagegen zu blasen.

Das Abhebern und Auslaufen der 9 Teilchen der Bazillensuspension: X. Die Bazillensuspension wird wegen der Infektionsgefahr in der Müllerschen Tulpe ange-

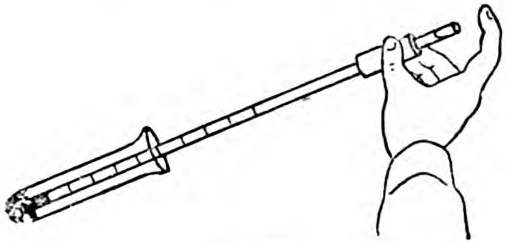


Fig. 18.

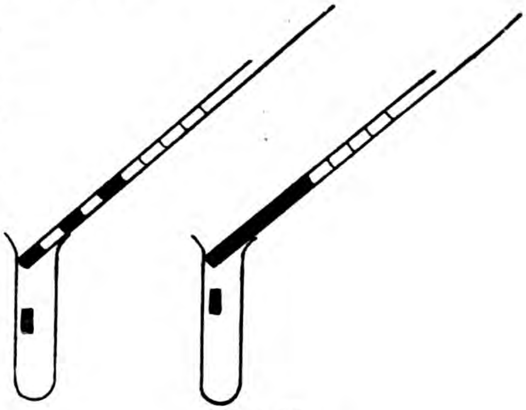


Fig. 19.

fertigt, welche für diese Pipette ein wenig anders gebaut werden muß; Länge und Diameter gibt die Figur genau an. — Eine Korkscheibe im obigen Teile, welche sich von selbst dem Glase anschmiegt, wird angebracht, um die Pipette beim Herausnehmen darüber reiben zu lassen, zum Auffangen der Flüssigkeit, welche von außen an der Pipette hängen geblieben ist.

Diese Tulpe hat den großen Vorteil, daß man die Dicke der Suspension genau beurteilen kann, weil der Diameter des dünnen Endes und der des serologischen Rohres übereinstimmen.

Das Anfertigen der Suspension in diesem Rohre verlangt auch noch eine nähere Beschreibung. Das Rohr wird mit physiologischer NaCl-Lösung bis an die Grenze des dünnen und dicken Rohres gefüllt; an dieser Stelle wird die Kultur verrieben und danach die NaCl-Lösung eingegossen, bis ungefähr zur Korkscheibe (Fig. 20). — Wegen des engen Lumens des Rohrs ist es schwer, die Bazillen homogen zu suspendieren. Man nimmt dazu einen dünnen Glasstab, fährt damit hin und her durch die Suspension, worauf sie sofort schön homogen wird. Der Glasstab wird dann in ein Rohr mit Desinfizientien gebracht. — Das Fickersche Diagnostikum wird zum Gebrauch, nachdem es gut geschüttelt wird, in die Tulpe hineingegossen.

Das Desinfizieren und Sterilisieren der Pipetten: Die Pipetten können, wenn notwendig, im Dampfsterilisator desinfiziert werden, ohne daß die Graduierung abgeht. — Das Desinfizieren der „Suspensionspipette" kann am besten mit einer verdünnten Kreolinlösung vorgenommen werden, wobei man die Pipette in einem Rohr mit diesem Desinfizienz stehen läßt. Den Rand des Kautschuks kann man dabei auf dem des Rohres ruhen lassen. Kreolin läßt sich nämlich sehr bequem mit dem Wasserstrahl aus der Pipette ausspülen, was mit Sublimat viel schwieriger ist. Hat man es mit verschiedenen Agglutinationsproben zu gleicher Zeit zu tun, so muß die „Suspensionspipette" zwischen zwei Reaktionen desinfiziert werden. Schnell und bequem erreicht man das,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

indem man die Pipette in ein Rohr mit **heißem** Glyzerin taucht, das durch kleine Flamme (Siedepunkt 290°) erwärmt wird. Die Pipette braucht hier wegen der hohen Temperatur nur kurz zu verweilen, um die Bakterien sicher abzutöten, wonach sie unter dem Wasserstrahl abgespült wird. Für die „Serumpipette" genügt tüchtiges Spülen unter dem Wasserstrahl.

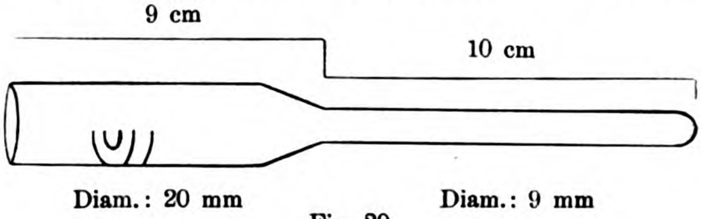


Fig. 20.

Die Serumverdünnungen für die Agglutinationsreaktion. Mit der oben beschriebenen serologischen Pipette kann man die Verdünnungen des Serums leicht vornehmen: Das Prinzip der Verdünnungen ist folgendes: In jedes Röhrchen kommt 1 Pipettenteilchen (Volumeinheit) der diesbezüglichen Serumverdünnung und 9 Teilchen Bazillensuspension. Jedes Serumteilchen der Suspension wird also 10× verdünnt; man muß daher die Verdünnungen, welche man herstellen will, durch **10 teilen**, um zu wissen, wieviel das Serum verdünnt werden soll.

Beispiel von Totalverdünnung 1:100. Das Serum muß hier verdünnt werden 100:10 = 10× (1 Teilchen Serum + 9 Teilchen physiologischer NaCl-Lösung).

Die Skala der Totalverdünnungen und die der Serumverdünnungen ist also:

Total-verdünnungen	1:50—1:100	1:250—1:500	1:1000	1:2500—1:5000	1:10 000—1:20 000
Serum-verdünnungen	1:5—1:10	1:25—1:50	1:100	1:250—1:500	1:1000—1:2000

Aus diesen Serumverdünnungen stellt man sich „Stammverdünnungen" her, womit die übrigen Serumverdünnungen ausgeführt werden.

Das empfohlene „Korkgestell" für die neuen Agglutinationsröhren bietet Gelegenheit, die Totalverdünnungen unter jedes Röhrchen auf dem Korkbrette aufzuzeichnen (Fig. 21).

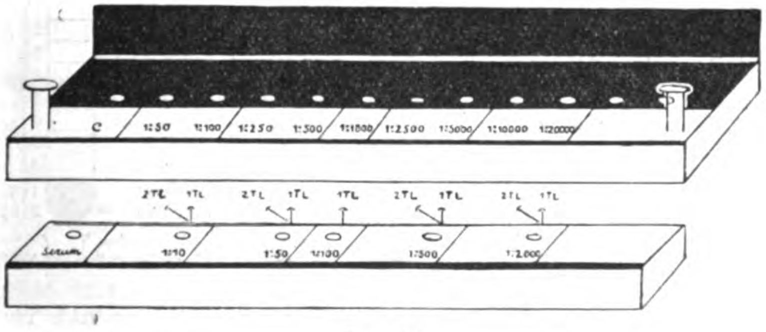


Fig. 21.

Für die „Stammverdünnungen" des Serums fertigt man sich ein anderes Korkgestell an von 22 cm Länge und 3 cm Breite, das ganz „weiß" gefärbt, und wo jede Stammverdünnung der zugehörigen Totalverdünnung gegenübergestellt ist. Auf diese Weise orientiert man sich am schnellsten. Die Löcher dieses Korkgestells müssen so gemacht sein, daß die Röhren leicht daraus zu entnehmen sind.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Anfertigen der „Stammverdünnungen“: Arbeitet man mit „Trocken“-Serum, so ist zur Lösung so viel Flüssigkeit zuzuführen, daß sofort eine 10fache Verdünnung entsteht. Das Serum hat beim Trocknen 10mal sein Gewicht an Wasser verloren; um es also wieder auf normale Stärke zu bringen, muß man 10mal soviel Flüssigkeit hinzufügen, also: 10 mg Trockensubstanz + $^1/_{10}$ ccm physiologischer NaCl-Lösung. Eine 10fache Verdünnung macht also: 10 mg Trockenserum + $^{10}/_{10}$ ccm (1 ccm) physiologischer NaCl-Lösung; mittels der serologischen Pipette also 2mal $^5/_{10}$ ccm.

Arbeitet man sofort mit „flüssigem“ Serum, so macht man die 10fache Verdünnung mit 1 Teilchen Serum + 9 Teilchen NaCl-Lösung.

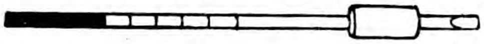


Fig. 22.

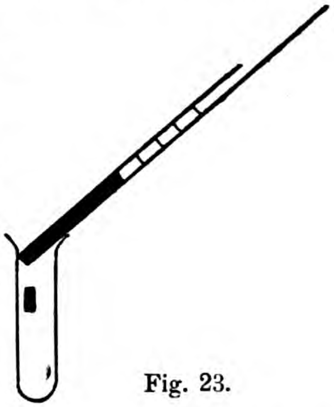


Fig. 23.

Beispiel von Stammverdünnung 1:10:

1) Spüle die serologischen Pipetten wie unter I, II, III.

2) Lasse einige Serumteilchen darauf gleiten (V). (Fig. 22.)

3) Davon 1 Teilchen in das Röhrchen 1:10 auslaufen lassen (Fig. 23) und blase das Uebrige in das ursprünglichen Röhrchen zurück.

4) Spüle die Pipette rein (I, II, III).

5) Füge 9 Teilchen der physiologischen NaCl-Lösung hinzu (VII), und hebere dazu 10 Teilchen in die Pipette und lasse bis Teilchen 1 auslaufen.

6) Spüle endlich die Pipette und mache die weiteren Verdünnungen auf dieselbe Weise, wie untenstehendes Schema genau angibt:

Stammverdünnungen (Fig. 24).

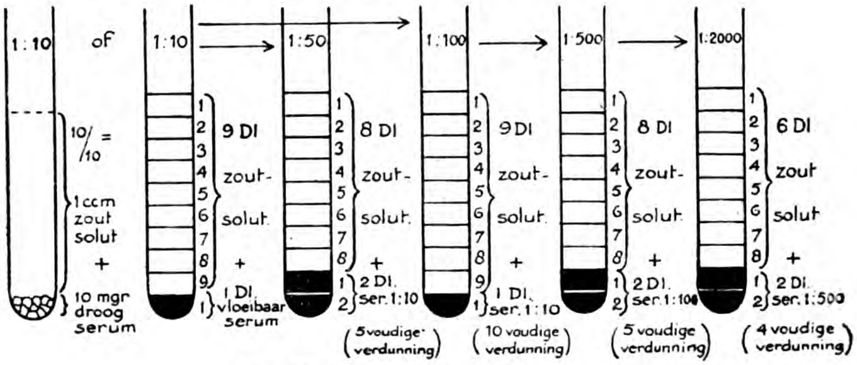


Fig. 24. „Stamm“verdünnungen.

Sind die „Stammverdünnungen“ angefertigt, so macht man von diesen aus die „Totalverdünnungen“ durch je 1 oder 2 Teilchen der diesbezüglichen Stammverdünnung, die man in das Röhrchen der Totalverdünnung bringt, wie folgendes Schema zeigt:

Totalverdünnungen (Fig. 25).

Die Pipette muß immer gut ausgespült werden, wenn von einer neuen Stammverdünnung genommen werden soll. Da, wo aus einer

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Stammverdünnung 2 Totalverdünnungen gemacht werden (1:50—1:100, 1:250—1:500, 1:2500—1:5000, 1:10000—1:20000), wird die gesamte Quantität für beide Totalverdünnungen zugleich in die Pipette gehebert, wobei man immer noch 1 oder 2 Teilchen mehr nimmt, wegen der Kapillarität der Pipette, um das Ausblasen zu vermeiden.

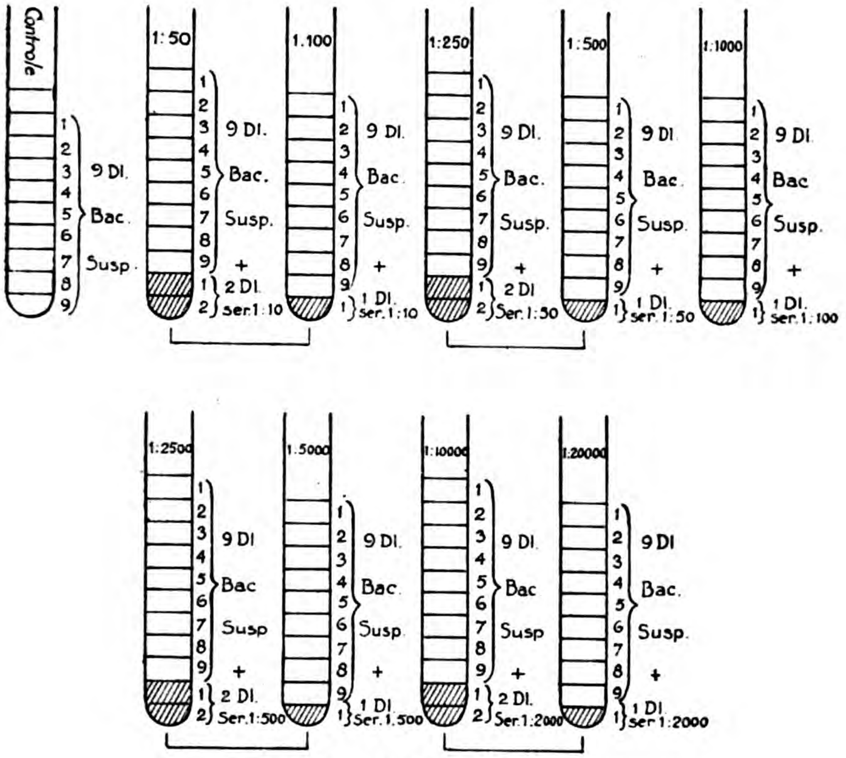


Fig. 25. „Total"verdünnungen.

Danach fügt man in jedes Röhrchen 9 Teile der Bazillensuspension mit der „Suspensionspipette" hinzu aus der „Müllerschen Tulpe" (X).

Der Vorteil dieser Pipetten liegt im Arbeiten mit „Volumeinheiten", wodurch die Berechnung der Verdünnungen immer dieselbe bleibt.

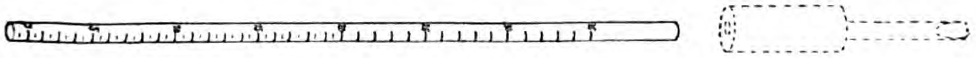


Fig. 26.

Will man mit noch weniger Flüssigkeit arbeiten, so kann man natürlich jedes Pipettenteilchen kleiner machen und statt auf 1 cm Abstand auf 0,5 cm die Graduierung machen. Auch kann man das Lumen der Pipette enger wählen, so z. B. 3 mm Diameter, doch ist dabei zu bedenken, daß hier die „Kapillarität" auch eine größere wird.

Für die Reaktion von Wassermann, von Meinicke und Sachs-Georgi mache ich die Pipette 20 cm lang; Diameter 4 oder 5 mm, graduiert in 35 Teile von $^1/_2$ cm Abstand; bis Teilchen 20, zwar jedes Teilchen noch unterhalbiert, wie untenstehende Zeichnung angibt (Fig. 26).

Die Figuren S. 11—28 stammen aus: M. van Riemsdijk, Bactereriologische-serologische Methoden en Recepten. Amsterdam (Swets u. Zeitlinger).

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber ein neues Färbungsverfahren der Tuberkelbazillen im Sputum[1]).

[Aus der Poliklinik für innere Krankheiten des Staatlichen klinischen Instituts für ärztliche Fortbildung zu St. Petersburg (dirigierender Arzt: Prof. J. Lowzky).]

Von Dr. **W. P. Semenow,** I. Assistenzarzt.

Das anscheinende Fehlen der Tuberkelbazillen in einem sie bestimmt enthaltenden Sputum liegt besonders darin, daß bei mit Tbcbazillen behafteten Kranken außer „stark säurefesten" Bazillen noch „schwach säurefeste" vorkommen, welche, leicht durch Säure entfärbt, anscheinend eine schwache Verwandtschaft dem Fuchsin gegenüber aufweisen, weswegen in solchem Auswurfe diese „schwach säurefesten" Bakterien bei der Bearbeitung nach der Methode von Ziehl-Neelsen nicht gefunden werden. Man muß sich daher einer Farbe bedienen, die eine Verwandtschaft zu den Tbcbazillen aufweist, und sogar zu den Formen, die „schwach säurefest" der einen oder anderen Säure gegenüber sind.

In dieser Richtung hin arbeitend und hauptsächlich, weil zeitweise in unserem Laboratorium größter Mangel an Fuchsin herrschte, da dieses auf dem Markte fehlte, wählte ich während der Nachprüfung eine ganze Reihe von Verfahren, und zwar hauptsächlich solche, die in den letzten Jahren in der deutschen medizinischen Literatur beschrieben worden sind, z. B. die Methoden von Schaedel, Marx, Kronberger, Weiss etc., Dahlia, die dem Tbcbazillus gegenüber eine größere Verwandschaft aufweist als Anilin oder andere Anilinfarben, die zu eben denselben Zwecken empfohlen werden.

Bekanntlich gehört Dahlia zu den basischen Anilinfarben und wird beim Erwärmen von Rosanilin mit Jodmethylviolett erhalten; sie ist auch bekannt unter dem Namen Violett, Jodviolett, Trimethylmethan, Primula, chlorwasserstoffsaures Salz des Triäthylrosanilin — $C_{20}H_{18}(C_2H_6)_3N_3O$. Dahlia ist gut lösbar sowohl in Wasser wie auch in Alkohol.

Ihre 1-proz. wässerigen Lösungen färben beim Erwärmen bis zum Sieden, im Gegensatz zum Fuchsin, die Kochschen Bazillen in Strichpräparaten sehr intensiv, und es entsteht keine Entfärbung nach Behandlung mit verschiedenen Säuren, während man bisher annahm, daß Tbcbazillen mit einfachen Wasserlösungen der Anilinfarben nicht gefärbt werden können.

Die wässerigen Lösungen der Farben können rasch untauglich werden und die Tbcbazillen sind (nach Ehrlich) von einer festen und schwer durchdringbaren Membran umgeben und färben sich intensiver, wenn die Stärke der Färbung der anzuwendenden Farbe durch Beifügung irgendeiner Beize gesteigert wird. Man bedient sich daher zum Färben der Alkohollösungen der Dahlia unter Hinzufügung von Karbolwasser.

Ich muß noch bemerken, daß verschiedene Konzentrationen der letzteren nicht ohne Einfluß sind auf die Dauerhaftigkeit und Widerstandsfähigkeit des Färbemittels.

---

1) Nach Vortrag, gehalten am 2. Juni 1922 im Mikrobiologischen Verein beim Lehrstuhl für Bakteriologie des Staatlichen klinischen Instituts für ärztliche Fortbildung zu St. Petersburg.

Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Bald mußte man aber die allgemein als Beizungsmittel angewandte 5-proz. Karbolsäure aufgeben, da sich bei der Arbeit herausstellte, daß die Farbe schon am nächsten Tage ausfällt und unbrauchbar wird.

Unter allmählicher Verminderung der Konzentration blieb ich daher bei der 2-proz. Karbolsäurelösung, durch die die Farbe für lange Zeit dauerhaft und tauglich zu Färbungsarbeiten wurde. Die Kochschen Bazillen nahmen hierbei eine ebenso ausgeprägte violette Färbung an, wie bei Dahlia, die mit 5-proz. Karbolsäurelösung hergestellt war.

Zum Entfärben des mit Dahlia auf Aufstrichpräparaten gefärbten Sputums, der alkohol- und säurefesten Pseudotbcbazillen, der zufällig in das Sputum hineingeratenen Bazillen des Geschlechtstraktes (Smegmabazillus) und der nicht säurefesten Mikroorganismen, sowie von allerlei Arten von Formelementen des Auswurfes wandte ich eine Alkohollösung der Schwefelsäure an.

Ohne Ergänzungsfärbung kann man auskommen, da bei der mikroskopischen Untersuchung des gefärbten Aufstrichpräparates des Auswurfes mit Zuhilfenahme der Oelimmersion die charakteristischen Tbcbazillen mit Dahlia vorzüglich gefärbt werden, als Relief auf dem farblosen Hintergrunde des Präparates hervortretend.

Will man aber einen gefärbten Hintergrund erhalten, was sehr wichtig für den Anfänger ist und für die raschere Festlegung des Objektives über dem Präparat, so muß er stark kontrastieren gegenüber den violett gefärbten Tbcbazillen.

Ich habe eine ganze Reihe von Färbemitteln geprüft, um einen solchen kontrastierenden Hintergrund zu erhalten, und habe anfangs Alizarin und Eosin angewandt, ging dann aber zum Aurantium über, einer sauren Anilinfarbe, dem Ammoniumsalz des Hexanitrodiphenylamin — $N[C_6H_2(NO_2)_3]_2NH_4$, welches ein besseres mikroskopisches Bild der mit Alkohollösung der Schwefelsäure entfärbten Mikroorganismen und Formelemente des Präparates zeigte.

Der Gang der Untersuchung ist folgender:

Auf das Präparat, das lege artis angefertigt, getrocknet und 3mal durch eine nicht leuchtende Spiritusflamme geführt ist, werden 8 bis 10 Tropfen einer 1-proz. wässerigen Lösung von Dahlia oder Karboldahlia (letztere aus einer Mischung von 10 ccm einer 10-proz. filtrierten Lösung von Dahlia und 100 ccm 2-proz. Karbolsäure, die mit destilliertem Wasser bereitet ist) aufgebracht, die bis zum Sieden aufgewärmt wird. Nach Abkühlung wird die Farbe abgegossen, das Präparat mit Wasser abgespült, in 10-proz. Alkohollösung der Schwefelsäure entfärbt bis zum völligen Schwinden der violetten Färbung bei durchdringendem Licht, dann von neuem mit Wasser abgespült und ergänzungsweise mit $^1/_2$-proz. filtrierter Aurantialösung 10 Sek. gefärbt, dann abgespült mit Wasser und getrocknet zwischen 2 Filtrierpapierblättern.

Bei solcher Bearbeitung erscheint der Hintergrund des Präparates goldig gefärbt, die einzelnen, paarigen, gehäuften oder zerstreuten Kochschen Bazillen treten intensiv violett gefärbt reliefartig hervor, während die Formelemente und alle anderen Mikroorganismen ins Goldene spielende Färbung zeigen, und man nicht selten auch leukozytäre Phagozytose der Tbcbazillen antrifft.

Der Gegensatz zwischen den letzteren und dem Hintergrunde tritt deutlich hervor: Die Kochschen Bazillen fallen stark ins Auge und sowohl ihre charakteristische Körnung wie auch die Muchschen Körnchen, die schwarzbläulich gefärbt sind, wie auch die Umrisse treten deutlich

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hervor. Bei meinen Untersuchungen stellte ich dann Vergleiche meiner Methode mit dem klassischen Verfahren von Ziehl-Neelsen und anderen an, wobei sich herausstellte, daß in den Fällen, in denen nach dem Ziehlschen Verfahren in vielen Gesichtsfeldern 1—2 Tbcbazillen gefunden wurden (13 Untersuchungen), im Aufstrichpräparat aus demselben Sputum und Stück, das mit Dahlia gefärbt war, die Kochschen Bazillen in großer Menge festgestellt werden konnten, da sie leichter sichtbar waren.

Weiter verglich ich meine Methode mit den Verfahren von Spengler, Kronberger und Marx. Sobald ich erschöpfend über größeres Material verfüge, werde ich darüber ausführlich berichten. Vorläufig aber kann ich nur darauf hinweisen, daß bei parallelen Färbungen von Ausstrichpräparaten des Sputums mit Kochschen Bazillen (29 Untersuchungen), die angefertigt waren aus einförmigen nach der Methode von Biedert-Afanassieff homogenisiertem Material mit Karboldahlia und nach Spengler und Ziehl-Neelsen (die beiden letztgenannten gelten augenblicklich als die besten), bei ersterer in allen Fällen eine weit größere Anzahl von Tbcbazillen gefärbt war.

Im Durchschnitt kamen auf 10 sich im Gesichtsfelde befindenden Kochschen Bazillen, die bei der Färbung der Aufstrichpräparate mit Karboldahlia gefunden wurden, in den nach Spengler gefärbten Präparaten 6, in den nach Ziehl gefärbten aber 4. Der Zählung wurden jedesmal 30 Gesichtsfelder eines jeden Präparates unterworfen.

Nach meinem Verfahren, das sich durch seine Einfachheit der Technik, Schnelligkeit des Färbens, Deutlichkeit des mikroskopischen Bildes und einem starken Kontrast zwischen dem goldigen Hintergrunde und den violett gefärbten Tbcbazillen auszeichnet, wird ein solches Präparat im Laufe von 3—4 Min. hergestellt.

Die Hauptvorzüge meines Verfahrens sind:

1) Bei der Färbung der Aufstrichpräparate des Sputums mit Dahlia, die aus homogenisiertem Material hergestellt wurden, ist die Anzahl der Kochschen Bazillen $1^1/_3$mal größer, als bei dem Verfahren von Spengler, und $2^1/_2$mal größer, als nach der Methode von Ziehl (10:6:4).

2) In den mit Dahlia gefärbten Präparaten läßt sich neben den typischen Tbcbazillen auch eine Körnung erkennen, die als schwarzblaue Punkte auftritt, an die Muchschen Körner erinnernd, die bei Färbung mit Dahlia in 3—4 Min. erhalten werden kann, beim Verfahren nach Much aber erst in 24—48 Std.

3) In einigen Fällen, in denen die Färbung nach Ziehl-Neelsen ein negatives Resultat gibt, entdeckt man mit Dahlia das Vorhandensein von Tbcbazillen.

Alle die angeführten Vorzüge scheinen abzuhängen von der größeren Verwandtschaft der Dahlia, dank dem Vorhandensein von Jod, den Tbcbazillen gegenüber, die intensiver in ihrer 1-proz. Wasserlösung gefärbt werden als mit Fuchsin, das in derselben Wasserlösungskonzentration denselben Krankheitserregern gegenüber indifferent bleibt. Deshalb werden in den Präparaten nicht nur „stark säurefeste“ Bazillen entdeckt (die sich bei Färbung mit Fuchsin nicht entfärben), sondern auch „schwach säurefeste“ sowie auch die Muchschen Körnchen (bei Färbung mit Fuchsin entfärbt durch Säurewirkung).

Bei der Färbung der Ausstrichpräparate nach dem von mir angegebenen Verfahren aus Teilen der Reinkultur des B. tuberculosis hum., gezüchtet auf Glyzerinagar, färbten sich die letzteren ausgesprochen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

violett mit den ihnen zukommenden, oben beschriebenen charakteristischen Eigenschaften.

Die anderen Reinkulturen anderer Arten säurefester Pseudotbcbazillen, wie z. B. der Smegmabazillus und Bazillus von Rabinowitsch, sowie auch Reinkulturen nicht säurefester Bazillen, wie z. B. der Bac. ozaenae und Bac. cholerae gallinarum, entfärben sich alle, mit Ausnahme des Bacillus von Rabinowitsch, in 10-proz. Schwefelsäure mit 70-proz. Alkohol, bei weiterer Bearbeitung nicht. Nach derselben Methode färbten sie sich nur mit der Ergänzungsfarbe, d. h. sie nahmen die goldige Farbe der Amantia an.

Nachdruck verboten.

Sedimentierflasche zur Aufbewahrung von präzipitierenden Seren bzw. anderen klaren Flüssigkeiten.

Von Prof. Dr. **W. Pfeiler**, Jena.

Mit 1 Abbildung im Text.

Präzipitierende Sera bzw. Extrakte für Präzipitationszwecke müssen absolut klar sein. Bekanntlich geben geringste Trübungen in präzipitierenden Seren bzw. Extrakten Veranlassung zur Ringbildung oder zu Ausfällungen [vgl. Pfeiler (1), S. 80ff.].

Die Aufbewahrung von Extrakten bzw. Seren geschieht im allgemeinen in Uhlenhuthschen Röhrchen, kleinen Reagenzgläsern oder Ampullen, die in Trinkgläsern, meist schräg gelagert, gehalten werden. Beim Herausnehmen kommt es häufig zum Aufwirbeln von Eiweiß- oder anderen Niederschlägen, so daß die Flüssigkeiten vor Benutzung zentrifugiert werden müssen; oder man läßt sie wochenlang bis zur vollständigen Klärung liegen.

Fig. 1.

Um dem abzuhelfen, sind Holzblöcke konstruiert worden, in denen die Aufbewahrungsgefäße stehend gehalten werden. Oder es sind kleine Phiolen gefertigt worden, die an einem oder beiden Enden spitz zulaufen. In diesen Kapillaren sammelt sich der die Trübung verursachende feine Niederschlag. Andere Phiolen haben unten eine Verjüngung und eine sich daran anschließende kugelförmige Erweiterung zur Sammlung von Niederschlägen.

Alle diese Konstruktionen sind behelfsmäßig und haben ihre Mängel, z. B. den, daß man bei engeren Phiolen nicht mit gewöhnlichen Pipetten arbeiten kann. Es müssen für die Entnahme von Serum Kapillarpipetten benutzt werden. Wer viel mit derartigen Flüssigkeiten zu arbeiten hat und genügend geschickt ist, weiß auch bei Benutzung gewöhnlicher Flaschen ein Aufwirbeln des Bodensatzes zu verhindern, der sich regelmäßig einstellt [vgl. Pfeiler (1), S. 81ff.].

Um die erwähnten Mängel zu beseitigen, gleichzeitig aber größere Mengen von Serum aufbewahren zu können — die Phiolen enthalten meist nur 1 ccm Serum — habe ich neuerdings ein Sedimentierfläschchen konstruiert, das ein Fassungsvermögen von 5 ccm hat. Das Fläschchen stellt, wie die nebenstehende Abbildung zeigt, eine Flasche ohne Boden dar, in deren Hals, umhüllt vom Mantel der Flasche, ein Einsatz eingeschmolzen ist, der sich, ähnlich wie bei den bekannten Zedernholzfläschchen, bis auf den gedachten Boden erstreckt. Die Wände des gerade

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

nach unten verlaufenden Einsatzes sind glatt, sie brechen etwa $1/2$ cm vor dem Bogen leicht abgeschrägt nach innen ab und enden in einer halbkugligen Vertiefung. In diese Vertiefung sedimentieren alle Ausfällungen aus Extrakten, Seren usw. hinein. Sie bilden dort einen mehr oder weniger festen, infolge der Konstruktion des Einsatzröhrchens nicht aufschüttelbaren Belag.

Beim Pipettieren, das mit gewöhnlichen 1 ccm. Pipetten vor sich gehen kann, kann ein Aufwirbeln niemals eintreten, da die Pipette am unteren Ende des Einsatzes über der Kalotte einen festen Halt findet. Das gelegentliche Abrutschen der Pipette bei Benutzung gewöhnlicher Flaschen, das zum Aufwirbeln des Bodensatzes häufig Veranlassung gibt, wird auf diese Weise vermieden.

Die Flaschen [1]) stehen zufolge ihrer Konstruktion (offener gestauchter Rand) fest auf. Sie können in kleinen Kästchen zu mehreren zusammenstehend (Menschen-, Pferde-, Rinder-, Schaf-, Antieiweißsera, präzipitierendes Milzbrand-, Pestserum, korrespondierender Extrakt usw.) aufbewahrt werden. Sie sind leicht zu reinigen und sterilisierbar, können mit Gummi- oder gewöhnlichen Korkstopfen verschlossen werden. Sie sind lieferbar in braun und weiß.

Literatur.

1) Pfeiler, Die Erkennung der bakteriellen Infektionskrankheiten mittels der Präzipitationsmethode. Berlin (Richard Schoetz) 1918.

---

1) Alleinige Herstellerin ist die Firma Wernicke und Wagner in Jena.

Berichtigung.

In der Arbeit von Waldmann und Trautwein „Die Maul- und Klauenseucheimmunität nach künstlicher unh spontaner Infektion sowie nach simultaner Impfung“ in Bd. 90. Heft 6 dieser Zeitschrift findet sich ein sinnentstellender Fehler. In Tabelle 4, S. 453 muß es heißen statt „Primäraphthen“ „Ohne Reaktion“ und statt „Generalisierte Aphthen“ „Primäraphthen“.

Corrigendum.

In Abt. I. Bd. 90. 1923. S. 501, Zeile 3 von unten muß es heißen anstatt „die kleine Sporen bilden“: die keine Sporen bilden.

Inhalt.

Batisweiler, Johann, Ueber einen Fall von Streptothrixpyämie, S. 81.

Beger, H., Ueber aktive Immunisierung mit „gekupferten“ Spirochätenkulturen bei der Weilschen Krankheit, S. 90.

Galli-Valerio, B., Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 120.

Huntemüller, O., Ein neues Verfahren zur Anaërobenzucht. Mit 5 Abbildungen im Text, S. 125.

Köhler, Otto, u. **Heilmann, Georg,** Ueber vergleichende intrakutane und intravenöse Sensibilisierung des Menschen mit Kaninchenserum, S. 112.

Pfeiler, W., Sedimentierflasche zur Aufbewahrung von präzipitierenden Seren bzw. anderen klaren Flüssigkeiten. Mit 1 Abbildung im Text, S, 143.

Rabinowitsch, Marcus, Zur Serodiagnostik des Echinokokkus, S. 102.

Seki, Tadahide, Ueber einen eigenartigen Ruhrerreger, S. 101.

Semenow, W. P., Ueber ein neues Färbungsverfahren der Tuberkelbazillen im Sputum, S. 140.

Stutzer, M. J., Zur Frage über die Fäulnisbakterien im Darm, S. 87.

van Riemsdijk, M., Ueber eine verbesserte Optik der Ausflockungsreaktionen und die Technik der serologischen Reaktionen im allgemeinen. Mit 26 Abbildungen im Text, S. 128.

Zuelzer, Margarete, u. **Oba, Shiro,** Beitrag zur Kenntnis saprophytischer Spirochäten. Mit 1 Tafel, S. 95.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-15 11:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 91. Heft 3/4.

Ausgegeben am 14. Januar 1924.

Nachdruck verboten.

Der Rezeptorenapparat der in Asciteskultur gezüchteten Typhusbazillen.

[Aus dem Hygieneinstitut der Universität Breslau (Direktor: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Prof. Dr. **Carl Prausnitz** und Dr. **Max Preuss.**

Nach Untersuchungen von Ranque, Senez und Fiessinger[1]) wird bei manchen Bakterien durch die Züchtung in Ascitesbouillon der antigene Charakter tiefgreifend verändert: Durch Immunisierung mit solchem „Ascites-Stamm“ soll man Sera erhalten, die sowohl mit der Ausgangskultur und einer auf gewöhnlicher Bouillon gewachsenen Kultur der gleichen Bakterienart, wie auch — und das war das Ueberraschende — mit auf Ascitesbouillon gezüchteten ganz andersartigen Bakterien reagierten (Komplementbindung, Opsoninreaktion). Danach müßte es scheinen, als ob unter dem Einflusse der Züchtung in asciteshaltigen Nährböden in den antigenen Kern außer dem Bakterienplasma noch ein Anteil dieser Ascitesflüssigkeit überginge.

Es lag zunächst nahe, die Erscheinung so zu deuten, daß bei der Immunisierung gleichzeitig mit den Bakterien auch Ascites injiziert wird, und daß daher im behandelten Kaninchen neben den Bakterienantikörpern auch Menscheneiweißpräzipitine gebildet würden; es ist klar, daß unter dieser Annahme auch Ascitestyphusbazillen mit einem gegen Ascitesstaphylokokken gewonnenen Kaninchenserum Komplementbindung geben könnten, infolge einer Präzipitation des an den Staphylokokken haftenden Ascites durch das Immunserum.

Die Frage nach der Abschleifung des spezifischen antigenen Charakters von einem Bakterium durch diese Züchtung in Ascitesbouillon kann daher durch die vorliegende Veröffentlichung nicht als geklärt angesprochen werden. Es wurde daher von uns versucht, das Problem weiter zu klären. Wir haben uns aber zunächst auf die Teilfrage beschränkt, inwieweit die Züchtung in Ascitesnährböden die Agglutinierbarkeit der Typhusbazillen beeinflußt.

Versuchsergebnisse.

Die Sera der verwendeten Kaninchen waren vor der Behandlung frei von Typhusagglutininen. Die benutzten Typhuskulturen waren „Ty. 1“, ein seit Jahren im Institut fortgezüchteter, zur Bestimmung der Gruber-Widalschen Reaktion regelmäßig verwendeter, gut agglutinierender Stamm, und ein frisch isolierter Stamm, „Ty. 2“. Die zur Immunisierung der Tiere verwendeten Typhusstämme wurden vor Beginn der Versuche 12 Tage lang auf Ascitesagar, bzw. Ascitesbouillon unter täglicher Ueberimpfung fortgezüchtet. Zur Immunisierung dienten:

1) Compt. rend. de Biol. T. 81. 1918. p. 392, 531; Ref. diese Ztschr. Ref. Bd. 70. 1920. S. 231.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:10 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Impfstoff I (Abschwemmung einer 24-stünd. Ascitesagarkultur in 0,8-proz. NaCl),

Impfstoff II (24-stüd. Ascitesbouillonkultur),

Impfstoff III (Impfstoff II zentrifugiert, Sediment in 0,8-proz. NaCl-Lösung 4mal auf der Zentrifuge gewaschen, bis das Waschwasser keine Sulfosalizylsäurereaktion mehr gab).

Die Impfstoffe wurden durch 1-stünd. Erhitzung auf 60° abgetötet. Mit Impfstoff I wurde Kan. 1 und 2, mit Impfstoff II Kan. 3 und 4, mit Impfstoff III Kan. 5 und 6 behandelt, und zwar wurde jedem von ihnen am 24. Nov.: 0,1, am 29. Nov.: 0,25, am 6. Dez.: 1,0 ccm intravenös eingespritzt; Blutentnahme am 16. Dez.

Die so gewonnenen Sera zeigten eine deutliche und typische Agglutination sowohl von Typhusbazillen aus gewöhnlichen Nährböden, wie von Ascitestyphusbazillen. Dagegen wurde ein Uebergreifen auf andere, längere Zeit in Ascitesnährböden gezüchtete Bakterien nicht festgestellt (Paratyphus A, Streptokokken und Staphylokokken).

Die Wirkung der Sera gegenüber den auf gewöhnlichem Agar gezüchteten Typhusbazillen erreichte annähernd die üblichen Titerwerte (Tabelle, Versuch 1).

Die Agglutination der Ascitesagarkulturen zeigte bei der Hälfte der Sera bereits deutlich höhere Agglutinationstiter (Tabelle, Versuch 2).

Wesentlich bessere Ergebnisse zeigte die Agglutination der Ascitesbouillonkulturen durch die gleichen Sera. Besonders ausgeprägt war die Titererhöhung sämtlicher Sera gegen „Ty. 1“, aber auch gegen „Ty. 2“ zeigten 4 von 6 Seren eine sehr deutliche Titererhöhung (Tabelle, Versuch 3).

Grundsätzlich hat sich demnach ergeben: Durch Einspritzung von Ascitestyphuskulturen gewonnene Immunsera agglutinieren die homologen (Ascites)kulturen erheblich stärker als die auf gewöhnlichem Nährboden gewachsenen Typhusbazillen.

Zur Erklärung dieser auffallenden Beobachtung scheinen 2 Möglichkeiten vorzuliegen: 1) Bei der Immunisierung mit Ascitestyphuskulturen können gleichzeitig und unabhängig voneinander Ascitespräzipitine und Typhusagglutinine entstehen, die sich in ihrer Auswirkung gegenseitig unterstützen würden; 2) es war aber auch denkbar, daß — entsprechend der Annahme von Ranque und seinen Mitarbeitern — die Züchtung auf Ascitesnährböden zu einer qualitativen Abänderung im Rezeptorenapparat der Typhusbazillen geführt hätte.

Um die erste Möglichkeit zu erforschen, hatte schon die Immunisierung mit dem Impfstoff III gedient, bei dem, wie oben beschrieben, die in Ascitesbouillon gewachsenen Typhusbazillen durch gründliches Waschen auf der Zentrifuge von äußerlich anhaftendem Menscheneiweiß möglichst gereinigt worden waren. Ein ausgesprochener Erfolg dieser Maßnahme war nicht zu erkennen: die Sera der mit den verschiedenen Impfstoffen behandelten Kaninchen wiesen untereinander keine gleichmäßigen, eindeutigen Unterschiede auf (vgl. Tabelle).

Zur weiteren Klärung der Frage wurde a) eine auf gewöhnlichem Agar gewachsene Typhuskultur in Ascites aufgeschwemmt und 1 Std. damit geschüttelt, um eine äußerliche Imprägnierung der Bakterien mit dem Menscheneiweiß zu bewirken; b) ferner wurde eine seit langem in Ascites gezüchtete Typhuskultur in gewöhnliche Nährbouillon 2 Passagen hintereinander übergeimpft. Beide Reihen wurden gegen die 6 Immun-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sera geprüft, a) Versuch 4, b) Versuch 5, Tabelle. Der mit „Ty. 1" angesetzte Versuch mißlang, weil die Kultur aus nicht erklärten Gründen zu dieser Zeit spontan agglutinierte. Der mit „Ty. 2" angesetzte Versuch verlief jedoch eindeutig und zeigte folgendes Ergebnis: a) Nach 1-stünd. Schütteln in Ascites verhalten sich gewöhnliche Typhusbazillen im allgemeinen nicht anders wie vor dem Schütteln; sie zeigen dagegen nicht eine so hohe Agglutinierbarkeit wie die Ascitestyphuskulturen. b) Dagegen bleiben die Ascitestyphuskulturen auch nach 2maliger Ueberimpfung in gewöhnlicher Bouillon annähernd so hoch agglutinierbar wie vor der Ueberimpfung.

Die immerhin nicht restlose Eindeutigkeit der bisher aufgeführten Ergebnisse ließ an die Möglichkeit denken, daß die mit Ascitestyphusbouillon gespritzten Kaninchen außer den Antikörpern gegen Typhusbazillen auch solche gegen Menscheneiweiß gebildet hätten. In der Tat waren Menschenpräzipitine reichlich vorhanden in den Seren von Kan. 3 und 4 (vorbehandelt mit Ascitesbouillon-Typhusbazillen), spärlich in dem Serum von Kan. 5 (vorbehandelt mit dem gewaschenen, also menscheneiweißarmen Sediment von Ascitesbouillon-Typhuskulturen). Die übrigen Sera enthielten keine nachweisbaren Mengen von Menschenpräzipitin. Um die störende Wirkung auch kleinster, optisch nicht mehr nachweisbarer Menschenpräzipitinmengen auszuschließen, wurden sämtliche Sera mit Ascites versetzt, 24 Std. im Eisschrank bei Zimmertemperatur stehen gelassen und 45 Min. bei 3000 T. zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde nochmal in gleicher Weise mit Ascites digeriert und zentrifugiert. Trotzdem aus den Seris der größte Teil ihrer Menscheneiweißpräzipitine entfernt sein mußte, zeigten sie immerhin relativ hohe agglutinatorische Wirksamkeit gegen Ascitesbouillon-Typhusbazillen und Ascitesagar-Typhusbazillen (Versuch 6 und 7, Tabelle).

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich eine gewisse Sonderstellung im antigenen Verhalten der auf asciteshaltigen Nährböden gezüchteten Typhusbazillen; die durch Immunisierung mit ihnen gewonnenen Antikörper wirken intensiver auf die Ascites-Typhusbazillen als auf die in gewöhnlichen Nährböden gezüchteten Typhusbazillen. Den Beweis, daß durch die Züchtung in Ascitesnährböden der Rezeptorenapparat der Typhusbazillen grundlegend abgeändert wurde, ergibt endlich der Castellanische Absorptionsversuch. Serum von Kaninchen 4 wird a) mit einem dauernd auf Agar gezüchteten Ty. 2, b) mit einem auf Ascitesagar gezüchteten Ty. 2 wiederholt abgesättigt, bis die betreffenden Kulturen nicht mehr agglutiniert werden: nach Absättigung mit der Asciteskultur agglutiniert das Serum noch die auf gewöhnlichem Nährboden gewachsenen Kulturen, und umgekehrt:

Serum Kaninchen 4 abgesättigt mit	Titergrenze der Agglutination von Agarkultur	Ascitesagarkultur
Ascitesagarkultur	1 : 12 000	0
Agarkultur	0	1:2500

Hieraus folgt also, daß im Serum der mit Asciteskulturen vorbehandelten Tiere zwei verschiedene Antikörper vorhanden sind, solche für die gewöhnlichen und solche für die Ascites-Typhusbazillen; daraus ergibt sich weiterhin der Schluß, daß durch die Züchtung auf Ascitesnährböden der Rezeptorenapparat der Typhusbazillen eine tiefgreifende Aenderung erfahren hat.

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle.

Reziproke Titerwerte der Sera, die gewonnen waren durch Immunisierung mit:

	Agglutination von		Impfstoff I (Ascitesagar)		Impfstoff II (Ascitesbouillon)		Impfstoff III (Impfst. II, gewaschen)	
			Kan. 1	Kan. 2	Kan. 3	Kan. 4	Kan. 5	Kan. 6
Versuch I	Agarkultur	Ty. 1 Ty. 2	30 000 30 000	4 000 4 000	60 000 60 000	4 000 15 000	15 000 8000	4 000 4 000
„ II	Ascitesagar	Ty. 1 Ty. 2	30 000 15 000	15 000 30 000	60 000 60 000	30 000 30 000	8 000 15 000	60 000 30 000
„ III	Ascitesbouillon	Ty. 1 Ty. 2	240 000 15 000	240 000 240 000	240 000 30 000	240 000 120 000	240 000 60 000	240 000 60 000
„ IV	Agarkultur, 1 Std. mit Ascites geschüttelt	Ty. 2	15 000	30 000	15 000	15 000	15 000	15 000
„ V	Ascitesbouill., 2mal in gewöhnl. Bouill. umgeimpft	Ty. 2	960 000	960 000	60 000	240 000	30 000	30 000
„ VI Sera 2mal mit Ascites vorbehandelt	Ascitesbouillon	Ty. 1 Ty. 2	240 000 120 000	60 000 60 000	120 000 30 000	120 000 30 000	8 000 8 000	8 000 15 000
Versuch VII Gleiche Sera, wie in Vers. VI	Ascitesagar	Ty. 1 Ty. 2	240 000 8000	120 000 8000	800 000 4000	120 000 30 000	120 000 30 000	120 000 15 000

Zusammenfassung.

1) Durch längerdauernde Züchtung auf asciteshaltigen Nährböden wird der Rezeptorenapparat der Typhusbazillen verändert. Die Sera von Kaninchen, die gegen solche Ascitesbazillen immunisiert wurden, agglutinieren diese Bazillen in höherer Verdünnung als Typhusbazillen von ascitesfreien Nährböden.

2) Durch den Castellanischen Absorptionsversuch können in solchen Seren 2 Arten von Agglutininen nebeneinander nachgewiesen werden, eines für die gewöhnlichen Typhusbazillen und ein zweites für die Ascitestyphusbazillen.

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber Bakteriophagen gegen Choleravibrionen.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (stellv. Direktor: Prof. Dr. C. Prausnitz).]

Von Dr. **Gertrud Meißner,** Assistentin am Institut.

Mit 1 Abbildung im Text.

Während man gegen eine große Zahl von Bakterienarten Bakteriophagen gewonnen hat, ist dies bisher bei Vibrionen, abgesehen von einer gelegentlichen Angabe d'Herelles[1]) (Stuhlfiltrat) und Jöttens[2]) (aus alter Cholerabouillonkultur) noch nicht einwandfrei gelungen. Das ist um so auffallender, als die Vibrionen wie wenige Bakterien im Pfeifferschen Phänomen so leicht auflösbar sind. Nun ist es aus den Versuchen von Bordet und Ciuca[3]) u. a. bekannt, daß man nach Einspritzung von B. coli-Aufschwemmungen in die Meerschweinchenbauchhöhle spezifische Coli-Bakteriophagen im Exsudat nachweisen kann. Hieran anknüpfend habe ich auf Anregung von Herrn Professor Prausnitz mich bemüht, bei dem mit Choleravibrionen angestellten Pfeifferschen Versuch aus dem Exsudat spezifische Cholerabakteriophagen zu gewinnen.

Zu diesem Zweck wurden Meerschweinchen mit verschieden großen Dosen von Cholera- oder El Torvibrionen-Aufschwemmungen in Bouillon und wechselnden Mengen eines hochwertigen Choleraimmunserums intraperitoneal gespritzt; nach verschiedenen Zeiten wurde das Exsudat entnommen und in eine mit Cholera- bzw. El Torvibrionen beimpfte Bouillon übertragen: nach 24 Stunden Bebrütung bei 37° wurde die Bouillon filtriert; von den Filtraten wurden weitere Passagen nach der typischen d'Herelleschen Technik angelegt, gleichzeitig wurden sie im Agarplattenversuch auf bakteriophage Wirkung untersucht. Es erwies sich als zweckmäßig, den Meerschweinchen eine reichliche Vibrionendosis, aber nur so wenig Immunserum intraperitoneal zu injizieren, daß gerade noch eine langsame, nach 1 oder mehreren Stunden abgeschlossene Bakteriolyse erfolgte. Bei dieser Technik gelang es fast regelmäßig, Vibrionenbakteriophagen zu gewinnen.

Den 1. Erfolg erzielte ich bei einem Tier, das mit einem Gemisch virulenter El Tor- und kaum virulenter Choleravibrionen gespritzt wurde, in der Annahme, daß möglicherweise eine gegenseitige Einwirkung der beiden Vibrionenarten für das Zustandekommen des d'Herelleschen Phänomens Bedeutung haben könnte. In den weiteren Versuchen wurden jedoch mit gleich günstigem Ergebnis Reinkulturen von der virulenten El Torkultur oder der kaum virulenten Cholerakultur Nr. 74 ver-

---

1) d'Herelle, Der Bakteriophage und seine Bedeutung für die Immunität. Deutsch von Pfreimbter, Sell u. Pistorius. Braunschweig 1922. S. 79.

2) Klin. Wochenschr. 1922. S. 2181.

3) Compt. Rend. Soc. Biol. T. 83. 1920. p. 1293.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wendet. Das Immunserum stammte aus dem Reichsgesundheitsamt und hatte einen agglutinierenden Titer 1 : 50 000, einen bakteriolytischen Titer von etwas über 1 mg.

M.S.G. 44, 190 g, erhält am 30. Juli 23 $^1/_2$ Oese El Tor + $^1/_2$ Oese Cholera 74 + 1 mg Choleraimmunserum i.p. Nach 2 Std. nur noch Granula im Exsudat, daher $^1/_4$ Oese El Tor + $^1/_4$ Oese Cholera 74 nachgespritzt. Nach weiteren 3 Std. noch einige bewegliche Vibrionen vorhanden. Jetzt Entnahme des Peritonealexsudats: zu diesem Zweck werden 5 ccm Bouillon i.p. eingespritzt und nach leichter Bauchmassage sofort wieder aus der Bauchhöhle herausgesogen (Tier bleibt am Leben). Von dieser Exsudatbouillon je 1,5 ccm in je 10 ccm Bouillon, die bis zu leichtester Opaleszenz mit Cholera 74 bzw. El Tor beimpft war, übertragen. Keine Klärung. Filtration der beiden Röhrchen und Beimpfung neuer Röhrchen mit Cholera 74 bzw. El Tor und je 15 Tropfen der betreffenden Filtrate. Von der zweiten Passage an läßt sich in der Bouillon ein Bakteriophage gegen El Tor- und Choleravibrionen nachweisen, der auf der Agarplatte jedoch zunächst nur gegen El Tor wirksam ist. — 24 Std. später nochmalige Entnahme des Exsudats: aus diesem läßt sich nach gleicher Technik ein Bakteriophage gewinnen, der sowohl in der Bouillon wie auf der Platte gegen beide Vibrionenstämme gut wirksam ist.

M.S.G. 42, 200 g, erhält am 4. Aug. 23 eine Oese Choleravibrionen 74 + 1 mg Choleraimmunserum i.p. Nach 5 Std. einzelne bewegliche Vibrionen, nach 24 Std. keine Vibrionen; jetzt Entnahme des Exsudats und Uebertragung in Cholerabouillon. Von der zweiten Passage an bakteriophage Wirkung des Filtrats (Klärung der Cholerabouillon, Aufhellung der El Tor-Agarplatte). Ebenso wird nach 48 Std. Exsudat entnommen, das bereits im ersten Filtrat deutlich wirksam ist.

M.S.G. 3, 370 g, erhält am 4. Aug. 23 eine Oese El Tor + 1 mg Immunserum i.p. Nach 5 Std. wenige bewegliche Vibrionen. Nach 24 Std. Exsudatentnahme und Uebertragung in El Tor-Bouillon. Von der 3. Passage an Aufhellung der Bouillon, in der 7. Passage auch auf Agar zahlreiche gut ausgebildete Löcher.

Es ist bisher nicht gelungen, Bakteriophagen von hoher Wirksamkeit gegen die Vibrionen zu gewinnen. In der Bouillon rufen sie meist nur völlige Klärung in den unteren $^2/_3$ oder $^3/_4$ des Röhrchens hervor, darüber befindet sich eine leicht trübe Zone, die gegen die klare untere ziemlich scharf abgesetzt ist, das Oberflächenhäutchen fehlt gewöhnlich, während die Kontrollröhrchen gleichmäßige starke Trübung und kräftiges Oberflächenhäutchen zeigen. In Peptonwasser verhalten sich die Vibrionenbakteriophagen entsprechend. Zur Ausführung der Passagen wurden jeweils 10 Tropfen Filtrat auf 10 ccm Bouillon übertragen, da bei geringeren Mengen eine Wirkung zuweilen ausblieb. Bei Fortführung der Passagen wird eine gewisse Zunahme der Wirksamkeit erzielt, die bis zu vollständiger Klärung der Bouillon führen kann. Der höchste Lysinexponent, den ich beobachtete, war 10^{-4}. Bis jetzt konnten 35 Passagen hintereinander angelegt werden, ohne daß eine Abschwächung der Wirksamkeit beobachtet wäre.

Was die Darstellung der Bakteriophagen auf der Agarplatte anlangt, so machte sie zuerst Schwierigkeiten, da die Lochbildung sehr unregelmäßig auftrat. Erst bei Verwendung eines optimalen Agars (Fleischwasser anstatt Plazentawasser), auf dem ein üppiger Rasen wuchs, traten die Löcher regelmäßig auf. — Die beigegebene Abbildung zeigt solche Löcher, die zum Unterschied vom bekannten Bilde der glatten, kreisrunden Löcher bei Typhus-, Ruhr- und Coli-Bakteriophagen ein sehr eigenartiges Aussehen aufweisen: der Rand ist nicht kreisrund, sondern vielfach eingebuchtet, und im Zentrum erheben sich zahlreiche Sekundärknöpfe, so daß das Loch keine typische „tâche vierge“ ist, sondern ein wabenartiges Bild bietet. — Eigenartig ist es, daß gut ausgebildete Löcher in der Regel nur auf der El Torplatte, nicht auf der Choleraplatte beobachtet wurden, obgleich ein großer Teil der Bakteriophagen in Cholerabouillon fortgepflanzt wurde. Hierfür fehlt zunächst die Er-

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

klärung. Im allgemeinen konnten wir wenigstens eine Andeutung von Individuenspezifität beobachten, wie sie ja auch bei den Ruhrbakteriophagen vorkommt: Der durch Tierimpfung mit El Tor + Cholera 74 gewonnene Bakteriophage wirkte auf beide Stämme kräftig, der durch El Torimpfung gewonnene vorwiegend auf El Tor und schwächer auf Cholera 74, umgekehrt verhielt sich der durch Impfung mit Cholera 74 gewonnene Bakteriophage.

In den Bouillonröhrchen erreicht die Klärung meist ihr Maximum nach 12—15 Stunden, nach 17 Std. tritt Sekundärtrübung im oberen Teil und zuweilen beginnende Häutchenbildung auf. Nach 24 Std. ist oft makroskopisch kaum noch ein Unterschied gegenüber der Kontrolle nachweisbar. Die kulturelle Prüfung ergab das auffallend frühzeitige Auftreten von sehr zahlreichen lysoresistenten Keimen; dadurch wird die Ablesung in Bouillon wesentlich erschwert, oft sogar unmöglich gemacht, da häufig jede Klärung fehlt, während auf der Platte, wo die normalen Vibrionen durch die lysoresistenten nicht so rasch überwuchert werden, Bakteriophagenwirkung durch Lochbildung nachweisbar ist.

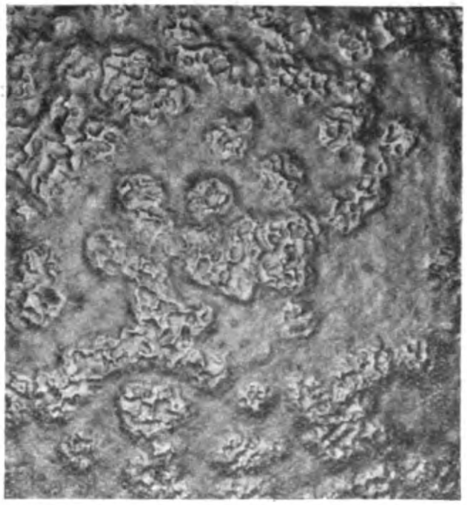


Fig. 1. Cholerabakteriophagen auf Agarplatte (Löcher mit zahlreichen Sekundärkolonien). 8mal vergrößert.

Bei der Fortzüchtung der Bakteriophagen, die bisher noch nicht gelungen war und auch mir anfänglich große Schwierigkeiten machte, spielt die Reaktion des Nährbodens eine große Rolle. Eine Alkalität von 7,3 p_H erschien mir am geeignetsten, während schon bei geringerer Alkaleszenz (z. B. $p_H = 7{,}1$) eine erhebliche Abschwächung oder sogar völlige Unwirksamkeit des Bakteriophagen festzustellen ist. Erst seit ich sorgfältig alkalisierte Nährböden verwende, habe ich gleichmäßige Resultate erhalten.

In diesen beiden Punkten ist wohl einer der Hauptgründe für die negativen Ergebnisse aller früheren Forscher (mit Ausnahme des einmaligen Zufallsresultates von d'Herelle) zu suchen.

Da man nach Doerr und Zdansky[1]) schwache Bakteriophagenwirkungen am besten im Verdünnungsversuch bei stundenweiser Ablesung erkennt, wurde folgender Versuch (S. 152) angesetzt, der gleichzeitig zur Titerbestimmung diente.

Gleichzeitig wurden nach dem Verfahren von Pfreimbter, Sell, und Pistorius[2]) sofort nach dem Ansetzen des Versuches sowie nach 3, 6 und 9 Std. mit je 1 Tropfen aus jedem Röhrchen Platten ausgespatelt und bebrütet mit folgendem Ergebnis:

Platten sofort ausgespatelt: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 und Kontrolle überall gleichmäßiges Wachstum.

Nach 3 Std. ausgespatelt: 1:10 große Löcher, zum Teil konfluierend. 1:100 zahlreiche große, isolierte Löcher mit Sekundärkolonien.

1) Ztschr. f. Hyg. Bd. 100. 1923. S. 79.
2) Münch. med. Wo. 1922. S. 495.

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Bakteriophage G 3, Filtrat 7, in fallenden Potenzen von 10 verdünnt.

	1 10^{-1}	2 10^{-2}	3 10^{-3}	4 10^{-4}	Kontrolle
Nach 3 Std.	fast klar	fast klar	etwas trüber als 2	etwas trüber als 3	trübe
„ 6 „	dgl.	etwas trüber als 1	dgl.	trüber als 3	dicke Trübung, Häutchen
„ 9 „	„	dgl.	„	trüber als 3, zartes Häutchen	dgl.
„ 21 „	trübe, Häutchen	trübe, Häutchen	trübe, Häutchen	trübe, Häutchen	etwas stärkere Trübung, Häutchen

1 : 1000 vereinzelte große Löcher.
1 : 10 000 und Kontrolle: keine Löcher.

Nach 6 Std. ausgespatelt: 1 : 10 steril.
1 : 100 ganz spärliche feine Kolonien.
1 : 1000 feine Kolonien, zum Teil konfluierend.
1 : 10 000 und Kontrolle: gleichmäßiger Rasen.

Nach 9 Std. ausgespatelt: 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 steril. 1 : 10 000 und Kontrolle: gleichmäßiger Rasen.

Flatterformen wurden nicht beobachtet.

Auch in bezug auf die Hitzebeständigkeit zeigt der Cholerabakteriophage ein von den meisten anderen abweichendes Verhalten: er ist schon gegen viel geringere Temperaturen sehr empfindlich. $\frac{1}{2}$ Std. bei 50° schwächt seine Wirkung erheblich ab; $\frac{1}{2}$ Std. bei 65° hebt sie schon vollständig auf, so daß es auch nicht durch Zusatz von 1,5 ccm Filtrat zu 10 ccm frisch mit Vibrionen beimpfter Bouillon gelingt, ihn wieder zu aktivieren. Im Gegensatz zu den bei Ruhr gewonnenen Ergebnissen von Otto, Munter und Winkler[1]) hat gleichzeitiges Filtrieren keinen deutlichen Einfluß auf die Wirksamkeit des Bakteriophagen.

Protokoll.

	0,1 ccm Filtrat ausgespatelt mit El Tor-Aufschwemmung	1 Tropfen Filtrat auf mit El Tor besäte Platte getropft
1) Filtration	teilweise, konfluierende, dichtstehende Löcher	Schwamm
2) $\frac{1}{2}$ Std. 40°, Filtration	dgl.	dgl.
3) $\frac{1}{2}$ „ 45°, „	sehr viel dichte, isolierte Löcher	„
4) $\frac{1}{2}$ „ 50°, „	155 Löcher	lockerer Schwamm
5) $\frac{1}{2}$ „ 56°,	350 „	viel isolierte Löcher
6) $\frac{1}{2}$ „ 56°, „	71 „	dgl.
7) $\frac{1}{2}$ „ 60°,	—	12 Löcher
8) $\frac{1}{2}$ „ 60°, „	3 „	20 „
9) $\frac{1}{2}$ „ 65°,	—	—
10) $\frac{1}{2}$ „ 65°, „	—	—

Eine Temperatur von 37° dagegen beeinflußt auch bei 2 Tage langer Einwirkung die Wirksamkeit des Cholerabakteriophagen nicht wesentlich.

Für die Auffassung über die Natur des Bakteriophagen wäre es von grundlegender Bedeutung gewesen, nachzuweisen, daß — im Sinne der Versuche von Bordet und Ciuca[2]) — durch den Zerfall der

1) Otto, Munter u. Winkler, Ztschr. f. Hyg. Bd. 96. 1922. S. 118.
2) a. a. O.

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Bakterien in der Meerschweinchenbauchhöhle eine fermentative Lyse der Bakterien in Gang kommt, die dann von einer Generation der Bakterien zur anderen fortführbar wäre. Bekanntlich hat d'Herelle[1]) in seiner Kritik dieser Versuche auf die Möglichkeit hingewiesen, daß schon im normalen Meerschweinchen Bakteriophagen vorhanden wären und daß diese durch den Reiz der intraperitonealen Bakterieninjektion in der Bauchhöhle angereichert werden könnten. Allerdings stehen den vereinzelten Beobachtungen d'Herelles ein Reihe negativer, z. B. von Gratia[2]), Otto, Munter und Winkler[3]) gegenüber. Ich habe daher unbehandelten Meerschweinchen intraperitoneal 5 ccm Bouillon eingespritzt und (1) sofort sowie (2) nach 24 Std. das Exsudat entnommen; dann wurde 0,005 ccm Choleraimmunserum in 0,5 ccm physiol. Kochsalzlösung eingespritzt und (3) nach weiteren 24 Std. wieder Exsudat entnommen. Nun wurden 2 Oesen Choleravibrionen mit 0,001 ccm Choleraimmunserum zusammen eingespritzt und (4) 12 Std. danach den (inzwischen gestorbenen) Tieren Exsudat entnommen. Die einzelnen Exsudate wurden in Vibrionenbouillon übertragen und nach 24 Std. Bebrütung bei 37° durch sterile Berkefeld-Kerzen filtriert. Bei 3 von 4 Tieren erwies sich bereits das Filtrat des 1. oder 2. Exsudates als bakteriophag wirksam, bei dem 4. Tier waren dagegen alle 4 Exsudate unwirksam: mit anderen Worten, es hat sich ganz im Sinne der d'Herelleschen Auffassung gezeigt, daß die Meerschweinchen normalerweise Bakteriophagen enthalten können, und daß nur aus solchen Tieren nach der hier angewandten Technik Cholerabakteriophagen zu erzielen sind.

Entsprechend den Tierversuchen bemühte ich mich auch, im bakteriolytischen Reagenzglasversuch durch die Einwirkung von Ambozeptor und Komplement auf Choleravibrionen Bakteriophagen zu gewinnen. Es trat dabei zwar ab und zu leichte Aufhellung der Bouillon ein, in einem Falle wurden auch einzelne Löcher auf der Platte beobachtet, aber eine Fortzüchtung des lytischen Prinzips ist hierbei noch nicht gelungen. Zur Erklärung wird man im Anschluß an die kurz zuvor berichteten Ergebnisse annehmen dürfen, daß auch das vom Esel stammende Immunserum oder das Meerschweinchenkomplement geringe Mengen von Bakteriophagen enthalten hat, die aber zur Fortzüchtung nicht ausreichten. Die Versuche werden fortgesetzt.

Daß die beschriebenen Versuche als Bakteriophagenwirkung zu deuten sind, dürfte durch die Fortführbarkeit des Phänomens der typischen Klärung der Bouillon und der Bildung steriler Löcher auf der Agarplatte erwiesen sein. Da die Vibrionenbakteriophagen gegenüber dem Nährboden sehr empfindlich sind, und da sich sehr schnell lysoresistente Keime bilden, macht ihre Fortzüchtung und auch ihre Darstellung — besonders in flüssigen Medien — häufig Schwierigkeiten[4]).

1) Compt. rend. Soc. Biol. T. 86. 1922. p. 464.

2) Compt. rend. Soc. de Biol. T. 86. 1921. p. 276.

3) a. a. O.

4) In einer Veröffentlichung aus letzter Zeit (Compt. rend. Soc. Biol. T. 88. 1923. p. 723) berichtet d'Herelle, daß er im Stuhlfiltrat Cholerakranker eine Substanz gefunden habe, die zwar Choleravibrionen auflöst, aber auf der Agarplatte keine „Taches vierges" hervorruft und nicht in Serie fortzüchtbar ist. Seiner Auffassung, daß es sich hier nicht um Bakteriophagen, sondern um eine fermentartige Substanz gehandelt haben muß, wird man nur bedingt zustimmen können: Nach meinen Erfahrungen wäre es ebensowohl denkbar, daß auch diesen Befunden d'Herelles die

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Von besonderem Interesse erscheint die Feststellung, daß bei der spezifischen Bakteriolyse des Pfeifferschen Versuches Gebilde oder Stoffe vom Bakteriophagencharakter auftreten, die anscheinend von vornherein im Meerschweinchen vorhanden sind und durch den Pfeifferschen Versuch nur angereichert werden.

Zusammenfassung.

Nach intraperitonealer Impfung von Meerschweinchen mit einer tödlichen Menge von Cholerakultur und geringen Mengen Choleraimmunserums (inkompletter Pfeifferscher Versuch) wurden aus dem Exsudat Bakteriophagen gegen Choleravibrionen gewonnen, die in vielfachen Passagen Klärung der Bouillon und Lochbildung auf der Agarplatte hervorriefen. Auch im normalen Meerschweinchen sind Cholerabakteriophagen nachgewiesen worden.

Nachdruck verboten.

Die Aminosäuren in ihrer Beziehung zur Pigmentbildung des Bacillus pyocyaneus.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der K. Universität Modena (Italien), (Vorstand Prof. E. Centanni).]

Von Dr. **José Carra,** Assistent.

Gessard (1) wies bereits darauf hin, daß der Pyocyaneus drei Pigmentarten erzeugt: ein blaugrünes, das in Chloroform löslich ist, ein grünliches, das in Chloroform und Alkohol unlöslich, dagegen in Wasser löslich ist, und ein rotbraunes, das anfänglich nicht genau gekennzeichnet werden konnte.

Das weitere Studium dieser Pigmente hat ergeben, besonders dank Bolands (2) Untersuchungen, daß es sich nur um 2 Pigmente handelt, da das dritte ein Zersetzungsprodukt des ersten ist. Es sind demnach 2 Pigmente festgestellt: das Pyocyanin mit seiner Ableitung, der Pyoxanthase, und das Fluorescein.

1) Das Pyocyanin gewinnt man aus Kulturen mit Chloroform [Fordos (3)]; es kristallisiert in langen, blauen Nadeln. Die Chloroformlösung, die mit Säure behandelt wird, besonders mit Salzsäure, nimmt eine rot-violette Färbung an und wird wieder blau, sobald sie alkalisch gemacht wird; die reduzierenden Substanzen verwandeln sie in ein weißgelbliches Produkt (Leukobase). Die Lösungen in Chloroform werden mit der Zeit zuerst grün und dann gelb (Pyoxanthase). Aus den Chloroformlösungen löst die Säure 1:3 nur das Pyocyanin, während Schwefelsäure 1:3 auch das Fluoresceïn löst.

Bezüglich des Pyocyanin nimmt man an, daß es von den Bakterien als Leukobase gebildet wird und seine typische Farbe erst an der Luft annimmt, da bekanntlich die Anaërobenkulturen farblos sind.

Chemisch untersucht hat diese Substanz Ledderhose (4), der sie in Form von Pikrat isolierte und als aromatische Verbindung aus der Kategorie des Anthrazen kennzeichnete mit der Grundformel $C_{14}H_{14}N_2O$.

Wirkung eines allerdings sehr schwachen Bakteriophagen zugrunde läge; auch von meinen Cholerabakteriophagen ist nämlich eine Anzahl nicht über die ersten Generationen fortzüchtbar gewesen; das war besonders zu Anfang meiner Versuche häufig der Fall und scheint sich durch Unzulänglichkeiten meiner damals geübten Methodik zu erklären.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wird diese Substanz verschiedene Male in größeren Dosen Meerschweinchen und Kaninchen eingespritzt, so bringt sie gar keine Wirkung hervor, woraus zu schließen ist, daß sie nicht Ursache der pathogenen Wirkung des Keims ist [Legros (5)].

2) Pyoxanthase. Aus dem Umstande, daß durch die reduzierenden Substanzen das Pyocyanin weißgelblich wird, und daß beim Altern dasselbe sich mehr und mehr vermindert, während das gelbliche Pigment immer mehr zunimmt, hat Boland geschlossen, daß es sich lediglich um eine Ableitung des Pyocyanin handelt, was in der Folge von anderen Autoren bestätigt wurde; diese Substanz wurde dann Pyoxanthase genannt. In Chloroformlösungen an der atmosphärischen Luft geht diese Umwandlung langsam vor sich; sie erfolgt dagegen schnell, wenn sie der Sonne ausgesetzt ist, weil im Chloroform Chlor frei wird, das in diesem Falle das Agens der Umwandlung ist.

3) Das Fluorescein verursacht die grüne Fluoreszenz, ist in Wasser löslich, jedoch nicht in Alkohol und Chloroform; es ist keine Eigentümlichkeit des Pyocyaneus, sondern wird auch von verschiedenen anderen Bakterien und vornehmlich von dem Fluorescens liquefaciens erzeugt.

Bei der Untersuchung über die Entstehung und Art des Pigments benutzt man 1) die gewöhnlichen Kulturmedien, 2) die synthetischen Nährböden.

Gewöhnliche Nährböden.

Auf den gewöhnlichen Nährböden wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1) Was die stickstoffhaltigen Substanzen anbelangt, so erhält man bei Benützung des reinen Peptons und der Gelatine als Kulturmittel nur Pyocyanin, doch tritt andererseits auch die fluoreszierende Substanz zutage, wenn das Medium aus Eiweiß und Fleischbrühe bestand [Gessard, Boland und Gazzetti (6)].

2) Zum Studium der ternären Zusammensetzungen wurden verschiedene Zuckerarten probiert, und dabei wurde gefunden, daß einige derselben die Pyocyaninbildung nicht zulassen, und zwar teils wegen des Uebermaßes an Säure, teils aus anderen chemischen Ursachen. Was das Glyzerin betrifft, so ergab sich, daß es nicht nur die Bildung von Pyocyanin nicht befördert, wie Gessard annahm, sondern dieselbe eher verhindert (Boland).

3) Das Vorhandensein der Luft hat sich als nötig erwiesen, weil im luftleeren Raume kein Pigment gebildet wird und darin wahrscheinlich nur eine Leukobase entsteht.

4) Bezüglich der Temperatur ergab sich, daß die für die Pigmentbildung in den verschiedenen Chromogenen einschließlich des Pyocyanin günstigste Temperatur niedriger ist als die, welche das Wachstum am besten fördert [Sulima (7)], und in der Tat entsteht die Farbe weniger schnell im Thermostaten als nachher an der atmosphärischen Luft.

5) Das Vorhandensein farbloser Rassen wurde festgestellt und ihre Umwandlung in den Kulturen und an Tieren studiert [Verderame (8)].

6) Bezüglich der Assoziation mit anderen Bakterien haben Mühsam und Schimmelbusch (9) gefunden, daß der Pyocyaneus zusammen mit dem Streptococcus und dem Anthraxbacillus kein Pigment bildet.

7) Durch das Serum immunisierter Tiere wird die Farbbildung verhindert [Georghiewski (10)].

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Synthetische Nährböden.

Die Versuche mit diesen wurden begonnen, nachdem Uschinski diese Mittel beschrieben hatte. Kuntze (11), der Versuche mit Abänderung der Uschinski-Flüssigkeit anstellte, erhielt beim Bacillus prodigiosus mit Asparagin eine bessere Farbe als mit Laktat und Weinsteinsäure von Ammonium, und sowohl Ammoniumnitrat wie auch Harnstoff gaben keine Farbbildung; für Asparagin und Ammoniumlaktat müssen jedoch zwei Bedingungen gegeben sein: Vorhandensein von Glukose und Magnesiumschwefelsäure. Nösske (12) hat die Magnesiumschwefelsäure als solche oder in Form anderer Verbindungen jedes der beiden Elemente für den Pyocyaneus als unentbehrlich erkannt. Kuntze bestätigte das und konstatiert, daß Magnesium nicht durch Karbonat von Kalzium, Strontium, Barium, Lithium, Sodium und Kalium ersetzt werden kann. Aubel (13) fand, daß Schwefel nicht durch Selen ersetzt werden kann, ebensowenig wie Arsenik an die Stelle von Phosphor treten könnte, oder Kalzium, Strontium und Vanadium das Magnesium ersetzen können, wogegen Kalium durch Iridium oder Cäsium ersetzt werden kann. Nötig ist das Vorhandensein von Phosphor, besonders in Form von Natriumphosphat [Gessard, Thumm, Jordan, Seixas Palma (14)].

Untersuchungen über den Austausch von Indol und Tryptophan haben Herzfeld und Klinger (15) angestellt, die zu folgenden Schlüssen gelangten: Die indolpositiven Bazillen, wie Coli, Cholera, Pyocyaneus haben die Fähigkeit, das Tryptophan zu zersetzen; diese Zersetzung bewirken aber auch die indolnegativen, wie Typhi, Paratyphi und Diphtheriae, die jedoch das Indol auch konsumieren. Unfähig zu dieser Verwertung des Indols sind die indolpositiven im eigentlichen Sinne und auch verschiedene indolnegative. Der Verbrauch an Tryptophan ist geringer, wenn der Nährboden „andere Bausteine" (aufbauende Elemente = Aminosäuren) enthält, wie das im Nährboden mit Pepton der Fall ist. Die stark proteolytischen Keime, wie Coli-Bazillus, Proteus und Pyocyaneus, lösen ihrerseits das Tryptophan von den Proteinen, so daß eine Zunahme der ursprünglich hinzugefügten Tryptophanmenge konstatiert werden kann; der Staphylococcus verursacht nur ein geringes Anwachsen, während andere, wie Typhus und Paratyphus, immer eine Verminderung bewirken (der Verbrauch übersteigt deshalb die Produktion).

Aubel hat am eingehendsten den Einfluß der synthetischen Mittel auf das Wachstum und die Farbe des Pyocyaneus studiert. Er hat einen Nährboden aus 5 g Asparagin, 1 g Magnesiumschwefelsäure, 2 g Monokaliumphosphat und 1000 g Wasser hergestellt und untersucht, welche Veränderungen sich ergaben, sobald die Elemente variiert und andere eingeführt wurden.

Bezüglich der Entwicklung hat er dabei folgendes festgestellt:

1) Ersetzt man das Asparagin durch einige Aminosäuren, so ist das Ergebnis ebenfalls günstig bei Asparticsäure, Alanin und Glutaminsäure; als weniger günstig erweisen sich Cystin und Tyrosin, während man bei Glykokol und Leuzin gar keine Entwicklung beobachtet. — 2) Ersetzt man sie durch die Amine (Mono-, Di-, Trimethylamin, Monoäthylamin, Propylamin) und durch die Amide (Acetamid, Propinamid und Harnstoff), so ergibt sich, daß sie nicht fähig sind, brauchbaren Stickstoff zu liefern; Harnstoff befördert die Entwicklung etwas, wenn man Zucker beifügt. — 3) Ersatz durch die Ammoniakverbindungen ergibt, daß Ammoniumsukzinat und Ammoniumzitrat für sich allein genügen; setzt man Zucker hinzu, so erweisen sich alle ammoniakhaltigen Salze der organischen Säuren wie: Formiat, Azetat, Laktat, Tartarat, Butyrat, apfelsaures Salz und einige der unorganischen schwefel- und chlorsauren Salze

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

als ausreichend. — 4) Bei Einführung ternärer Verbindungen wurde beobachtet, daß ein stickstoffhaltiges Element, wie das Glykokoll, das in obigem Nährboden nicht assimilierbar ist, assimiliert werden kann, sobald Zucker vorhanden ist. Wenn eine Aminosäure nicht als Stickstoffquelle dienen kann, so kann sie ebensowenig als Kohlenstoffquelle benützt werden. Durch Hinzufügung von Glyzerin zum Asparagin wird die Assimilation des Stickstoffs beschleunigt.

Bezüglich der Bildung des Pyocyanin hat Aubel festgestellt: 1) Die Aminosäuren Alanin, Tyrosin, Glutaminsäure lassen Pigmentbildung zu, aber nicht das Glykokoll. Von den beiden Arten der Asparticsäure, der linken und der inaktiven, liefert nur die linke Pigment, nicht aber die inaktive; hierbei ist jedoch zu bemerken, daß aus dem sich zersetzenden Asparagin eine inaktive Säure entsteht. — 2) Die ammoniakhaltigen Salze geben Pigment mit dem größten Teil der organischen Säuren (Zitrate, Laktate); Formiat liefert kein Pigment; bei Ammoniumschwefelsäure und Ammoniumchlorür ist die Pigmentbildung unbeständig; mit den Nitraten erhält man nur das grüne, fluoreszierende Pigment. — 3) Die Säuren und Alkohol verhindern die Pigmentbildung nicht, wenn ihre Dosis nicht die Grenze erreicht, bei welcher Entwicklung nicht mehr zugelassen wird. Hinzufügung von Glukose stört die Bildung des Pyocyanins, doch ist dies nicht der Säure zuzuschreiben, weil sie unter der hierfür erforderlichen Grenze bleibt. Auch Saccharose und Mannit (15 Proz.) verhindern die Pigmentbildung, wenn sie auch keine Säuren erzeugen.

Experimenteller Teil.

In einer Reihe von Untersuchungen, die ich über die Verwertung der Aminosäuren seitens der Bakterien vorgenommen habe, um deren Biologie zu illustrieren und dieselben eventuell als diagnostisches Kulturmittel zu benützen, konnte ich bei meinen Experimenten am Pyocyaneus Beobachtungen machen, welche unsere Kenntnisse über die Vorbedingungen der Pigmentbildung vertiefen.

Als Kulturmittel benutzte ich die Uschinskische Flüssigkeit, in welcher ich als Stickstoffquelle an Stelle des Asparagins und des Ammoniumlaktats folgende Aminosäuren setzte: Alanin, Glykokoll, Leuzin, Tyrosin, Tryptophan (Merck und Kahlbaum), im Verhältnis von 0,44 Proz., die dem Asparagin selbst entspricht.

Bei der Untersuchung der Wirkungen auf die Vermehrungsfähigkeit und die Farbbildung wurden folgende Resultate erhalten:

	Asparagin	Alanin	Glykokoll	Leuzin	Tyrosin	Tryptophan
Entwicklung	+	++++	+++	++	+++++	++++++
Pigmentbildung 1. Woche	blau +	blau +++	blau +	kein Pigm.	blau +	kein Pigm.
3. „	„ ++	„ ++++	„ +++	„ „	„ +++	„ „
5. „	grün +	„ ++	blaugrün ++	„ „	„ ++	„ „
8. „	gelb	gelb, etwas grünlich	gelb, etwas grünlich	„ „	gelb	„ „

Die Tabelle zeigt zunächst, daß die Pigmentbildung mit der Ueppigkeit des Wachstums nicht Schritt hält; beim Tryptophan z. B. erfolgt trotz üppigsten Wachstums nie Farbproduktion, und auch beim Leuzin, bei dem die Entwicklung weniger intensiv ist, kann man keine Spur von Farbe feststellen.

Unter den Substanzen, die sich für die Pigmentbildung eignen, steht an 1. Stelle das Alanin, welches Pigment in größter Menge liefert, und bei dem die Farbe am dauerndsten ist; Tyrosin und Glykokoll geben im Anfang eine weniger kräftige Entwicklung, die später aber zunimmt, ohne jedoch die des Alanins zu erreichen. Was die Umwandlung des Pyocyanins in Pyoxanthase betrifft, so dauert diese am längsten beim Alanin und ist erst nach 8 Wochen beendet; ein Um-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

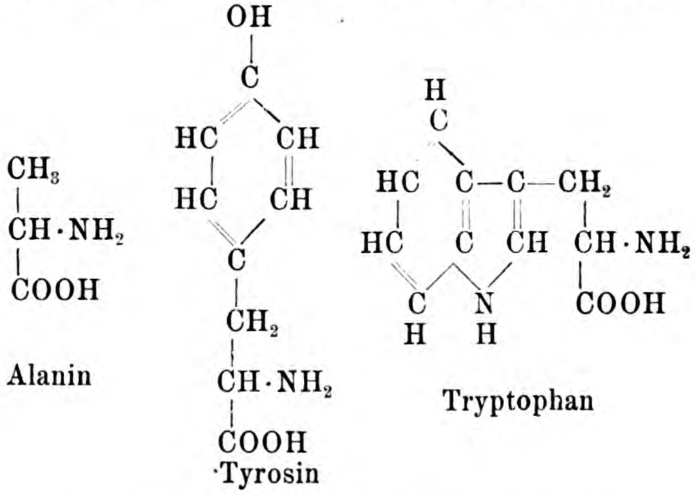
stand, der sicher seine Begründung in dem Ueberflusse findet, mit dem die Muttersubstanz produziert worden ist.

In einem entsprechenden Zeitraume vollzieht das Glykokoll dieselbe Umwandlung, aber die grüne Farbe erscheint darin ein wenig früher, bereits in der 5. Woche. Im Asparagin und Glykokoll ist das Pigment geringer, und seine vollkommene Umwandlung in Pyoxanthase erfolgt schneller.

Mittels Chloroforms habe ich aus der Alaninkultur das Pyocyanin gewonnen, und durch die Behandlung der Chloroformlösung mit Salzsäure erhielt ich die typische Umwandlung in Granatrot. Im wässerigen Teil blieb das gelbe Pigment aufgelöst; es ist auch vorhanden, wenn die blaue Färbung sehr intensiv ist, und wird von dieser verdeckt. Es bilden sich also bei den von mir angewandten Kulturmitteln beide Arten von Pigment.

Chemische Beschaffenheit.

Das Alaninmolekül erscheint am geeignetsten für die Bildung des Pyozyaninmoleküls, dann kommen der Reihe nach Tyrosin, Glykokoll und Asparagin. Die Annahme, daß jede Aminosäure, die Alanin enthält, das für die Pigmentbildung geeignetste Mittel darstellt, scheint durch das Tyrosin bestätigt zu werden, denn, wie vermutet, wird von diesem das Alanin, welches einen Teil seines Moleküls bildet, verwertet:



Alanin Tyrosin Tryptophan

Im Gegensatz dazu steht jedoch das Verhalten des Tryptophans, welches, obwohl es eine Seitenkette Alanin enthält, durchaus kein Pigment liefert. Hier liegt der Gedanke nahe, daß entweder das Alanin durch die besondere Verbindung mit dem Benzol-Pyrrolring nicht zersetzt und als solches verbraucht werden kann, oder aber es wird zersetzt, und der Rest des Moleküls, also das Indol, verhindert das Erscheinen der Farbe. Aus diesem Grunde habe ich folgendes Experiment gemacht:

In 3 Serien von Untersuchungen mit Uschinskischer Flüssigkeit habe ich als ausschließliche Stickstoffquelle eingeführt in die 1. Indol, in die 2. Alanin und in die 3. Indol und Alanin, die beiden letzten im beiderseitigen Verhältnis zum Molekulargewicht, in dem sie im Tryptophan enthalten sind. Ich habe nun beobachtet, daß im Indol nicht allein

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

keine Farbbildung, sondern daß auch die Entwicklung ganz unbedeutend ist, und daß in der Verbindung Alanin-Indol die Vermehrung viel spärlicher ist, als im Alanin allein.

Es ist deshalb anzunehmen, daß vom Pyocyaneus das Tryptophan als solches verwertet wird, denn wenn dessen Spaltung erfolgte, würde nicht die gerade in dieser Aminosäure außerordentlich üppige Entwicklung eintreten. Daraus ist zu folgern, daß in dieser Zusammensetzung von Alanin (Tryptophan) die Farbbildung ausbleibt, weil das Alanin nicht als solches verwertet wird.

Die Annahme Ledderhoses, das Pigment des Pyocyaneus gehöre zur aromatischen Reihe, wird nicht durch die Beobachtung bestätigt, daß seine größte Entwicklung durch das Alanin erfolgt, während es spärlicher ist im Tyrosin, welches parallel mit dem Glykokoll geht, und im Tryptophan überhaupt fehlt: Tyrosin und Tryptophan, in denen die hauptsächlichen zyklischen Kerne des Proteinmoleküls enthalten sind. Andererseits kann man auch nicht annehmen, daß 2 Moleküle des Alanins sich vereinigen, um den Benzolring zu bilden, weil ein solcher Vorgang mit dem Leuzin leichter wäre, welches dagegen durchaus kein Pigment entwickelt.

Diese Frage ist jedenfalls durch direkte chemische Analyse zu lösen, da die Möglichkeit nicht auszuschließen ist, daß die zyklischen Kerne ihre Bildung besonderen Reaktionen verdanken.

Literatur.

1) Gessard, Maladie pyocyanique. [Thèse.] 1882. Paris 1889. — 2) Boland, Ueber Pyocyanin, den blauen Farbstoff des Bacillus pyocyaneus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899.) — 3) Fordos, Compt. rend. Acad. Sc. Paris. 1860. — 4) Ledderhose, Ueber den blauen Eiter. (Dtsch. Ztschr. f. Chirurg. Bd. 28. 1888; Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. S. 581.) — 5) Legros, Sem. méd. 1900. Nr. 46. — 6) Gazzetti, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. S. 588. — 7) Sulima, ebenda. Bd. 48. S. 320. — 8) Verderame, ebenda. Bd. 58. 1911. S. 302. — 9) Mühsam und Schimmelbusch, Arch. f. Chir. Bd. 46. — 10) Gheorghiewski, Ann. de l'Inst. Past. T. 13. 1899. p. 298. — 11) Kuntze, W., Ein Beitrag zur Kenntnis der Bedingungen der Farbstoffbildung des Bacillus prodigiosus. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 34. 1900. S. 169. — 12) Nösske, H., Ueber die Bedingungen der Farbstoffbildung des Bacillus pyocyaneus. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. 18. 1897.) — 13) Aubel, Action du pyocyanique sur l'asparagine. (Compt. rend. Ac. d. Sc. Paris. T. 173. 1921. p. 179; Recherches biochimiques sur la nutrition du B. pyocyanique. Caen et Paris (Lanier) 1921.) — 14) Seixas, Palma, Die Farbstoffe des Pyocyaneusbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. S. 417.) — 15) Herzfeld u. Klinger, Quantitative Untersuchungen über den Indol- und Tryptophanumsatz der Bakterien. (Ebenda. Bd. 76. 1915. S. 1.)

Nachdruck verboten.

Zur Histopathologie der herpetischen Meningoencephalitis des Kaninchens.

[Aus der II. med. Universitätsklinik in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. N. Ortner).]

Von Dr. **Ernst Lauda.**

Mit 2 Tafeln.

Luger und ich haben anläßlich unserer experimentellen Studien über Herpes in einigen Fällen alle Organe der unter Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangenen Kaninchen histologisch untersucht und

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hatten dabei negative oder nicht verwertbare Resultate, wie wir seinerzeit mitgeteilt haben. Dies stand mit den Publikationen anderer Autoren (Berger, Doerr und Berger, da Fano, Jakob, Levaditi, Harvier und Nicolau, Salmann, Zdansky) in Widerspruch, die anscheinend nach herpetischer Infektion regelmäßig encephalitische Veränderungen im Zentralnervensystem nachweisen konnten, wenigstens erwähnen sie keine negativen Befunde. Ich habe daher das noch von den gemeinsam mit Luger durchgeführten Untersuchungen stammende Material, welches durch einige Versuche ergänzt wurde, einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Ueber das Resultat derselben soll hier berichtet werden.

Unter den mit Herpes infizierten Tieren fanden sich solche, welche mit Herpes febrilis oder mit Herpes genitalis geimpft waren. Diese sollen gesondert besprochen werden.

Was die Technik der Untersuchung anlangt, so wurde Gehirn und Rückenmark in möglichst frischem Zustande in Formalin, Müller-Formol oder in Alkohol fixiert, in Paraffin eingebettet und in 2—4 μ dicke Schnitte zerlegt. Diese wurden mit Hämalaun-Eosin und Giemsa-Farbstoff und zwecks Studiums der später zu besprechenden Zell- und Kernveränderungen gegebenenfalls nach Nissl, Biondi, Mann in der Lentzschen Modifikation und mit Heidenhain-Eisenhämatoxylin gefärbt.

Es gelangten die Gehirne von 18 Kaninchen, welche mit Herpes febrilis-Virus geimpft waren, zur Untersuchung. 13 von diesen waren unter sicher beobachteten schweren Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangen, die restlichen 5 mit fraglichen Erscheinungen; diese sollen anhangsweise erwähnt werden.

Unter den 13 Tieren mit sicheren Allgemeinerscheinungen boten nur 5 histologisch schwere encephalitische Veränderungen, bei 6 konnten nur sehr geringgradige Veränderungen, bei 2 fast keine nachgewiesen werden. Auf die Beziehungen von Inkubation, Dauer und Art der Allgemeinerscheinungen zum histologischen Befunde wird später eingegangen.

Die histologischen Veränderungen bei den 5 genannten Tieren bestanden in Folgendem:

Es fanden sich regelmäßig perivaskuläre Infiltrate. Deren Lokalisation im Gehirn ist eine verschiedene; im allgemeinen handelt es sich um herdförmig in einem kleinen Gefäßbezirk angeordnete Infiltrate, die bald im Großhirn, bald im Hirnstamm, bald im Mittelhirn oder verlängerten Mark ihren Sitz haben und die nur seltener — bei den untersuchten Fällen nur 1mal — gleichmäßig über das ganze Gehirn verteilt sind. Im allgemeinen kann man sagen, daß die perivaskulären Infiltrate in reichlicherer Anzahl an der Hirnoberfläche und zwar meist am dichtesten an der Hirnbasis gefunden werden, insbesondere um kleine Rindengefäße, die sich von den weichen Hirnhäuten in der Rinde einsenken, wenn dort gleichzeitig eine Meningitis besteht. Ob hierbei die Meningitis oder die perivaskulären Infiltrate der von den Meningen abgehenden Gefäße das Primäre ist, läßt sich nicht gut entscheiden. In der Umgebung der entzündlich veränderten Meningen fanden sich die perivaskulären Infiltrate also in reichlicherer Zahl; sie konnten aber auch in solchen Hirnabschnitten, z. B. im Hirnstamm, nachgewiesen werden, wo ein Zusammenhang mit den Meningen auszuschließen ist. Die Infiltrate sind von verschiedener Mächtigkeit, bald handelt es sich nur um wenige Zellen, welche dem Gefäß anliegen, bald um einen dichten Mantel von mehreren Zellagen. Die Infiltrate setzen sich zumeist aus

Generated on 2019-09-15 11:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

lymphozytären Zellen, Plasmazellen und größeren protoplasmareichen Zellen mit großem runden leicht gebuchteten Kern zusammen. Es konnte gelegentlich eine lymphozytäre Zelle in der Gefäßwand selbst, einmal eine Teilungsfigur einer Infiltratzelle nachgewiesen werden, Befunde, welche mit der heute meist vertretenen Anschauung in Einklang stehen, daß die lymphozytären Infiltratzellen zum Teil emigrierte Lymphozyten, zum Teil histogene lymphozytäre Zellen, zum Teil an Ort und Stelle sich durch Zellteilung vermehrende Elemente darstellen. Im übrigen fand aber die Frage nach dem Wesen und der Herkunft der Infiltratzellen in dieser Arbeit keine eingehende Würdigung. Die Zellen mit den gebuchteten Kernen können leukozytenähnlich sein; echte Leukozyten wurden in den Infiltraten nur selten angetroffen.

Außer den perivaskulären Infiltraten fanden sich auch Infiltrate im Parenchym. Daß diese tatsächlich keinen Zusammenhang mit den Gefäßen haben, beweisen Serienschnitte. Sie fanden sich in geringer Anzahl, in geringerer als man bei Durchmusterung eines Präparates oft anzunehmen geneigt wäre; denn perivaskuläre Infiltrate, die eben nur tangential getroffen sind, können den Eindruck von parenchymatösen Infiltraten hervorrufen. Eine bestimmte Lokalisation oder eine Prädilektionsstelle konnten für diese Infiltrate nicht gefunden werden, auch sie setzen sich aus den früher beschriebenen Zellen zusammen.

In 4 von den 5 in Rede stehenden Fällen fand sich eine Meningitis. Nur in einem dieser Fälle war die Infiltration der Meningen eine diffuse. Die Lokalisation der herdförmigen Meningitis scheint, wie oben angedeutet, häufig von der Lokalisation der encephalitischen Rindeninfiltrate abhängig zu sein, ist aber auch manchmal selbständig. Sie erreichten in den untersuchten Fällen nur an vereinzelten Stellen höhere Grade. Es handelt sich regelmäßig um eine lymphozytäre Infiltration, vereinzelte Leukozyten fanden sich inmitten der lymphozytären Zellen nur einmal.

Besonderes Interesse habe ich Ganglien- und Gliazellenveränderungen zugewendet, die ich in einem der 5 Fälle zu beobachten Gelegenheit hatte und die ich gemeinsam mit Luger bereits seinerzeit[1]) mitgeteilt habe. Wir haben darauf hingewiesen, daß die Veränderung am Kern im Mittelpunkt dieser pathologischen Zellveränderungen liegt, daß es sich um die gleiche Kernveränderung handelt, wie sie Lipschütz und Luger und ich nach Impfung der Kaninchenkornea mit Herpes febrilis in den Hornhautepithelzellen beschrieben haben. Ich könnte hinsichtlich der Beschreibung der Veränderung auf unsere seinerzeitigen Publikationen hinweisen. Da sich jedoch schon deshalb kleine Differenzen ergeben, weil es sich hier um Glia- und Ganglienzellen, dort um Kornealepithelzellen handelt und da ferner das genaue Studium der Glia- und Ganglienzellen doch einiges Neue aufgedeckt hat, was für die Auffassung der Kernveränderung nicht ohne Belang scheint, und weil endlich das Verhalten des Nucleolus hier genauer studiert werden konnte, will ich diese Veränderungen nochmals schildern.

Eine allgemeine Blähung der Zelle, an der Kern und Plasma gleichmäßig teilnehmen, leitet die Veränderung ein. Die Ganglienzelle zeigt gleichzeitig Chromolyse, die Nissl-Struktur ist erst verwischt, geht dann verloren; ob diese Tigrolyse mehr an der Peripherie oder mehr zentral beginnt, konnte ich nicht unterscheiden. An einigen Stellen,

1) Sitzungsber. d. Ges. f. Inn. Med. u. Kinderheilk. v. 14. Dez. 1922.

Generated on 2019-09-15 11:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

insbesondere dort, wo sich Ganglienzelle an Ganglienzelle reiht, z. B. im Ammonshorn, kann man beobachten, wie sich die Zellen infolge ihrer Blähung und ihrer Tendenz, eine kugelige Gestalt anzunehmen, aus ihrem gegenseitigen Kontakt lösen und in Durcheinander geraten, ein Bild, das dem vergleichbar ist, wie es Unna bei der ballonicrenden Degeneration gezeigt hat. An der Blähung des Kerns nimmt häufig auch der Nucleolus Anteil, er verliert hierbei häufig seine rundliche Gestalt, er erscheint verzogen, wurstartig, meist homogen, seltener fein vakuolisiert. Er liegt normalerweise im Zentrum des Kerns, mit zunehmender Degeneration rückt er an die Peripherie. In diesem ersten Stadium der Zellveränderung ist die Verteilung des Chromatins im Kern noch eine gleichmäßige.

Gleichzeitig mit zunehmender Homogenisierung des Protoplasmas kommt es nun zu der erwähnten Veränderung im Kern. Dieser zeigt nicht mehr die normale netzige Struktur des Basichromatins, sondern die Maschen desselben erscheinen vielmehr stellenweise weiter und lassen zwischen sich ein oder mehrere oxyphile Partikel erkennen, welche mit fortschreitender Veränderung größer werden und zusammenfließen können. Man kann alle Stadien beobachten: Mehrere kleine oxychromatische Gebilde in dem sonst noch ziemlich intakten Kern oder 2–3 größere oxychromatische Schollen, die durch einige Basichromatinstränge voneinander getrennt sind, endlich große Massen, die das Basichromatin scheinbar vollständig verdrängt haben. Dieser zentrale Kerninhalt füllt den Kern meist vollständig aus, ist jedoch manchmal, insbesondere in leicht geschrumpften Partien, von diesem etwas retrahiert, ein freier Hof trennt ihn dann von der Kernmembran, alles Befunde, die wir auch seinerzeit in der Kornea erheben konnten. Aber auch in sehr gut fixierten Partien kann man ähnliche Bilder beobachten. Luger und ich haben bei der Beschreibung dieser Kernveränderung im Kornealepithel schon darauf hingewiesen, daß diese Retraktion der zentralen Masse von der Kernmembran in vivo vorkommen kann und nicht unbedingt von der mangelhaften Fixation abhängig ist, da wir sie in abgeschabtem Kornealepithel im Nativpräparat zur Ansicht bringen konnten. Diese zentralen Kernmassen sind homogen, manchmal leicht krümelig. Gelegentlich war sie in den Ganglienzellen auch fein gleichförmig granuliert. Ich konnte Bilder beobachten, die den Abbildungen der Elementarkörperchen von Lipschütz bei Beschreibung der gleichen Kernveränderungen beim H. zoster sehr ähnlich waren, doch konnte ich auch bei Heidenhain-Färbung niemals den Eindruck gewinnen, daß es sich hier um kleine abgeschlossene selbständige Körperchen handeln würde, die Elementarkörperchen entsprechen könnten. Die häufigste der beobachteten Kernveränderungen war die, bei der der Kern von einer homogenen Masse vollständig ausgefüllt war. Diese Form der Kernveränderung erweckt keineswegs den Eindruck, daß man es in den zentralen Gebilden im Kern mit einem scharf konturierten, selbständigen und in sich abgeschlossenen Körper zu tun hat; es scheint sich bei diesen Gebilden vielmehr um eine plastische Masse zu handeln, die die basichromatinfreien Kernteile, eventuell das ganze Kerninnere ausfüllt. Jene Zackenbildungen, mit denen diese Zentralmasse mit der Kernmembran zusammenhängen kann, wie es Luger und ich im Kornealepithel beschrieben haben, kamen hier, wahrscheinlich wegen der besseren Fixation, nicht zur Beobachtung. Es soll aber nicht geleugnet werden, daß auch hier scharf umschriebene größere und kleinere Gebilde im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kern, wenn auch seltener, gesehen wurden. Die Dichte des Kernbinnenkörpers ist eine sehr verschiedene; seltener handelt es sich nur um eine sich oxychromatisch färbende wolkige Trübung des Kerninneren, meist um eine kompakte Masse. Das Basichromatin des Kerns rückt an die Kernperipherie. Bei entsprechender Einstellung mit der Mikrometerschraube kann man häufig die mit Basichromatinschollen dicht besetzte Kernmembran zur Ansicht gelangen lassen. Es handelt sich also um eine karyorrhektische Umwandlung des Kerns. Das Basichromatin ist in dem Stadium, wo das Kerninnere von der oxychromatischen Kernbinnenmasse erfüllt ist, entweder über die ganze Kernmembran gleichmäßig verteilt oder aber stellenweise an dieser in dichteren Klümpchen, welche in das Innere des Kerns leicht vorspringen, gelagert. Die Kernmembran erscheint durch diese Anlagerungen verdickt und erweist sich manchmal, wie auch im Kornealepithel, leicht zerknittert. Es scheint, daß die Gesamtmasse an Basichromatin im Kern in den Endstadien dieser Zellveränderungen reduziert ist, und man muß wohl annehmen, daß dies darauf zurückzuführen ist, daß sich das Basichromatin zum Teil färberisch umstellt und mit dem oxychromatischen Binnenkörper verschmilzt.

Die Blähung, gelegentliche Vakuolisierung und Deformierung des Nucleolus wurde früher schon erwähnt, auch des Umstandes wurde schon gedacht, daß das Kernkörperchen gegen die Peripherie des Kerns rückt. Man findet es dann hier und da der Kernmembran dicht angelagert, wobei es die oxychromatische Binnenmasse eindellen kann. In vielen Ganglienzellen, die diese beschriebene Kernveränderung im vorgeschrittenen Stadium zeigen, wurde der Nucleolus vermißt, es dürfte dies darauf zurückzuführen sein, daß vielleicht auch der Nucleolus sich am Aufbau des Kernbinnenkörpers beteiligt, daß der degenerierte Nucleolus in der oxychromatischen Masse des Kerns untergeht. Es muß schließlich betont werden, daß im Kern Gebilde gefunden werden können, bei denen, besonders in Hämalaun-Eosinpräparaten, die Entscheidung, ob es sich um geblähte Nukleolen oder um kleine oxychromatische Binnenmassen im obigen Sinne handelt, sehr schwer oder sogar unmöglich sein kann.

Was das färberische Verhalten der oxychromatischen Substanz anlangt, so verhält es sich in den Ganglien- und Gliazellen ebenso, wie ich es mit Luger in der Kaninchenkornea beschrieben habe. Bei Hämalaun-Eosinfärbung ist der Binnenkörper rot, die Kernmembran mit dem Basichromatin schwarzblau. Bei Giemsa-Färbung ist der Binnenkörper rot, das Basichromatin blau; hier hängt die Färbung des Binnenkörpers wohl wesentlich von der Differenzierung ab. Es gelingt — entsprechend dem amphophilen Verhalten aller Zellbestandteile — auch den Binnenkörper trotz seiner relativen Affinität zum Rot des Giemsa-Farbstoffes blau anzufärben; immer bleibt aber ein deutlicher Unterschied zum Tiefblau des Basichromatins. Bei Biondi- und bei Mannscher Färbung ergibt sich eine schöne Kontrastfärbung, indem sich das Oxychromatin rot, das Basichromatin grün, bzw. blau färbt. Bei Heidenhain-Eisenhämatoxylinfärbung erscheint der Binnenkörper grauschwarz, lichter als Nucleolus und Basichromatin. Die Nissl-Färbung bringt die Kernveränderung wohl auch deutlich zur Ansicht; da sich mit ihr jedoch keine Kontrastfärbung ergibt, ist die Veränderung nicht so in die Augen springend. Gelegentlich färbt sich bei Nissl-Färbung der Binnenkörper leicht rotviolett.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Je schwerer die Zelle verändert ist, um so mehr schwindet das an der Kernmembran angesammelte Basichromatin. Erst erkennt man an Stelle der Kernmembran nur mehr einen zarten Streifen, der stellenweise mit dunkeln Chromatinpartikeln besetzt ist, dann schwindet der Streif und die Grenze des Kerns ist nur mehr durch einige Chromatinschollen angedeutet, endlich verschwinden auch diese und das Protoplasma der Zelle, das übrigens schon alle Charaktere des Ganglienzellprotoplasmas verloren hat, vermischt sich mit dem nun nicht mehr scharf abgrenzbaren oxychromatischen Kernrest. Meistens ist in diesem Stadium die Zellgrenze nicht mehr scharf, wozu auch die später noch zu besprechende gliöse Reaktion das Ihre beiträgt. Schließlich geht die ganze Zelle in einer leichten, krümeligen, sich leicht oxyphil färbenden Detritusmasse auf.

Die beschriebene Zellveränderung war am reichlichsten in den Ganglien- und Gliazellen des Hippocampus und in der Rinde des Gyrus hippocampi zu finden. Im Hippocampus waren in manchen Schnitten alle Zellen von der Veränderung ergriffen, meist alle im gleichen Stadium. Sie wurde aber auch in den Stammganglien angetroffen, wobei es den Anschein hatte, daß immer eine größere oder kleinere Gruppe von Zellen lokalisiert erkrankt wäre, während andere Bezirke von der Degeneration frei waren. In den Stammganglien waren die degenerierenden Zellen in der nächsten Umgebung des Ependyms des 3. Ventrikels am reichlichsten zu finden; die Ependymzellen selbst waren intakt. Auch in den Rinden, Ganglien- und Gliazellen knapp oberhalb des Balkens zeigten die Zellen die eigenartige Erkrankung, während die übrigen Rindenbezirke der Hirnkonvexität sie vermissen ließen. Ganz vereinzelt wurden sie auch im Ammonshorn angetroffen, in einem kleinen Bezirk, der durch die Blähung und das Auseinanderrücken der Zellen durch das Zugrundegehen der Ganglienzellen an zirkumskripter Stelle schon bei schwacher Vergrößerung auffiel. Lokalisatorische Beziehungen zwischen diesen eigentümlichen Ganglienzellveränderungen und den Infiltraten konnten nicht nachgewiesen werden. Es liegt daher der Gedanke nahe, diese Zelldegeneration nicht als Teilsymptom oder als Folgeerscheinung der Entzündung aufzufassen, sondern ihr einen selbständigen Charakter beizulegen, wie ja auch Alzheimer bei der Paralyse und Creutzfeld bei der Encephalitis den regressiven Veränderungen eine von der Entzündung unabhängige Rolle zuerkennen. Bei der experimentellen herpetischen Encephalitis hat Jakob auf die Unabhängigkeit des Auftretens von schweren Parenchymdegenerationen von den Infiltrationserscheinungen aufmerksam gemacht.

Neben der beschriebenen Zelldegeneration, die, wie gesagt, nur in einem der 5 in Rede stehenden Fälle zu finden war — auf den gleichen Befund bei Impfung mit Herpes genitalis komme ich noch zu sprechen — konnte ich auch gelegentlich Schrumpfung von Ganglienzellen beobachten, wobei insbesondere der Kern dichter wird, ohne aber in seinem Aufbau eine wesentliche Veränderung zu erfahren. Der Kern nimmt, entsprechend der Schrumpfung des Zelleibes, oft Dreieckform an. Er überfärbt sich mit basischem Farbstoff. Schließlich gehen Zellen unter Verflüssigung neuronophagisch zugrunde, worauf ich ebenfalls weiter unten zurückkomme.

Die Reaktion der Glia war in allen 5 Fällen eine starke. Vielfach kam eine Wucherung der Trabantzellen zur Beobachtung, ein Vorgang, der nur durch sein reichliches Vorkommen als pathologisch angesehen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden konnte. Die Kontur der Ganglienzelle ist hierbei nicht durchbrochen, es handelt sich in diesem Falle um eine gliöse „Umklammerung". Häufig jedoch konnte auch echte „Neuronophagie" beobachtet werden; die Zellgrenze der Ganglienzelle ist hier infolge der Degeneration der Zelle durchbrochen, und es waren eine größere oder geringere Anzahl von Gliazellen in den Zelleib eingedrungen, bzw. es hatten sich Gliazellen an die Stelle des Ganglienzellprotoplasmas gesetzt. An manchen Stellen erinnert nur ein Herd von Gliazellen daran, daß hier eine Ganglienzelle zugrunde gegangen war. Gelegentlich wurden unter diesen wuchernden Gliazellen Formen angetroffen, welche vielleicht amöboide Formen angenommen hatten. In dem Falle mit der großen Zahl degenerierender Zellen fanden sich Nisslsche Stäbchenzellen in größerer Menge. Neben diesen progressiven Veränderungen der Gliazellen fanden sich auch regressive: Schrumpfung, Kernwandhyperchromatose, Fragmentierung, Pyknose.

In einem der 5 Fälle, mit den schweren encephalitischen Veränderungen fanden sich stellenweise Leukozyten in größerer Anzahl, am reichlichsten in der Umgebung der schwer veränderten Zellen der Ganglienzellschicht des Hippocampus. Hier lagen sie auch gelegentlich zu dichten kleinen Haufen abszeßartig beisammen, ein Befund, den auch Levaditi, Harvier und Nicolau bei der Kaninchenencephalitis nach Verimpfung menschlicher Encephalitis lethargica erheben konnten („Zone élective" dieser Autoren). In der Umgebung dieser kleinen Abszeßchen fanden sich auch vereinzelt Leukozyten in der meningealen Infiltration.

Schließlich fanden sich noch dreimal kleine frische Blutungen zum Teil frei im Parenchym, zum Teil perivaskulär ohne bestimmte Lokalisation.

Ich komme nun zur Beschreibung des histologischen Befundes der Gehirne der 8 Kaninchen, welche auch unter sicher beobachteten Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangen waren und bei denen nur ganz geringgradige oder gar keine anatomischen Veränderungen nachweisbar waren. Diese Gehirne wurden zum Teil in allen ihren Abschnitten in einer großen Anzahl von Schnitten untersucht, zum Teil konnten wohl einige Partien nicht untersucht werden, da sie zur Weiterführung der Passage verwendet worden waren. Immerhin wurde jedoch meistens wenigstens die Hälfte des Gehirns nach sagittaler Durchschneidung desselben histologisch untersucht.

Nur in einem dieser Gehirne fanden sich im Hirnstamm kleine lymphozytäre perivaskuläre Infiltrate um kleine Gefäße, meist nur aus wenigen Zellen bestehend, in anderen fehlten diese ebenso wie Infiltrate im Parenchym. In 2 Gehirnen konnte das eine Mal eine leichte Gefäßwandzellwucherung — Wohlwill hat, soweit die kurze Notiz ein Urteil erlaubt, ähnliche Bilder gesehen, — das andere Mal eine leichte perivaskuläre Gliawucherung bei sonst fehlender perivaskulärer Infiltration nachgewiesen werden. In 6 Gehirnen wurden Blutungen gefunden. Ihre Lokalisation war eine wechselnde; sie lagen teils frei im Parenchym, teils perivaskulär; eine größere Ausdehnung erreichten sie nie. Eine Gliawucherung konnte nur in geringem Ausmaße nachgewiesen werden; gelegentlich fand sich Neuronophagie. Zellschrumpfungen konnten ziemlich regelmäßig, Zelldegeneration mit Auftreten von oxychromatischen Binnenkörpern niemals beobachtet werden. Das Ependym zeigte auch hier keine Veränderung, die Meningen erwiesen sich nirgends als infiltriert.

Generated on 2019-09-15 11:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

In 2 Gehirnen konnten fast keine Veränderungen nachgewiesen werden; das eine zeigte eine leichte Hyperämie ohne Blutungen, ohne Infiltrat, vielleicht eine geringgradige Ganglienzelldegeneration, das andere vielleicht eine schwache Gliawucherung bei sonst normalem histologischen Befunde.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die histologische Untersuchung der Gehirne von 13 Tieren, welche unter sicher beobachteten Allgemeinerscheinungen nach Herpes febrilis-Impfung zugrunde gegangen waren, sehr verschiedenartige und verschieden starke Veränderungen aufgedeckt hat. Nur 5 Tiere boten das typische Bild der Encephalitis mit Infiltraten um die Gefäße und im Parenchym, mit Meningitis, Ganglienzeildegeneration und Gliawucherung, die übrigen zeigten zum Teil geringgradige Veränderungen, die wohl mit Sicherheit nicht als encephalitische gedeutet werden können (Blutungen usw.), zum Teil fast keine Veränderungen.

Untersucht man nun an der Hand der Protokolle, ob sich irgendwelche Beziehungen zwischen dem Auftreten echter entzündlicher Veränderungen im Gehirn und der Art der Impfung, ob sie korneal, subdural, oder intravenös, ob sie mit Bläscheninhalt oder mit Passagevirus durchgeführt wurden, der Inkubationszeit, der Art der Allgemeinerscheinungen und ihrer Dauer aufdecken lassen, so konnten derartige Zusammenhänge in den untersuchten Fällen nicht gefunden werden.

Alle 5 Tiere, bei denen die histologische Untersuchung des Gehirnes schwere encephalitische Veränderungen gezeigt hatten, waren wohl mit einem Originalstamm mit Bläscheninhalt geimpft, und zwar 3 korneal, 1 intravenös und 1 korneal und intravenös. Man könnte daraus den Schluß ziehen, daß das Auftreten von starken meningoencephalitischen Veränderungen davon abhängt, ob mit einem Original- oder mit einem Passagestamm geimpft wird. Es ist dem aber entgegenzuhalten, daß unter den 8 Tieren, die auch unter sicheren Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangen waren und bei denen die histologische Untersuchung des Gehirnes nur ganz geringgradige oder überhaupt keine Veränderungen hat nachweison können, sich 2 Tiere fanden, die auch mit einem Originalstamm geimpft waren. Daß die Veränderungen von der Verwendung eines Original- oder Passagestammes unabhängig sind, ergaben auch die später zu besprechenden Untersuchungen des Herpes genitalis. Die Inkubation bis zu dem Auftreten encephalitischer Veränderungen war in den untersuchten Fällen ebenfalls ohne Belang: Die 5 Tiere mit den sicheren Veränderungen im Gehirn erkrankten nach einer Inkubation von 9, 2, 9, 13, 14, 15 Tagen, die ohne Veränderungen nach 3, 4, 5, 7, 9, 10 und 11 Tagen. Die Dauer der Allgemeinerscheinungen schwankte sowohl bei den Tieren mit, wie bei denen ohne histologischen Befund zwischen einigen Stunden und einigen Tagen, eine Abhängigkeit der encephalitischen Veränderungen von der Krankheitsdauer läßt sich also ebenso nicht feststellen. Auch die Art der klinischen Erscheinungen der erkrankten Tiere, ob diese mehr dem Typus des paroxysmalen Anfalles oder dem Typ der protrahierten Attacken (Luger, Lauda und Silberstern) entsprachen, war ebenfalls ohne Bedeutung.

Die Untersuchung von 5 weiteren Gehirnen verdient noch eine eigene Besprechung. Ein Tier, welches mit einem sicher virulenten Gehirnpassagestamm intravenös geimpft war, wurde, ohne daß es Krankheitszeichen gezeigt hätte, beim Füttern durch die zufallende Stalltür 15 Tage nach der Infektion durch Zufall getötet. Die genaue histologische Untersuchung des ganzen Gehirns ergab keinerlei Veränderungen. 2 Tiere, welche während des Bestandes einer herpetischen Keratitis am 2. und am 9. Tage derselben interkurrent

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eingingen, zeigten im Gehirn histologisch einen normalen Befund. 1 Herpes febrilis-Immuntier schließlich, welches mit einem Korneapassagestamm intravenös geimpft war, nach 6 Wochen unter $1^1/_2$ Tage anhaltenden Allgemeinerscheinungen erkrankte und ungefähr 1 Jahr nach der Impfung interkurrent ad exitum kam, zeigte histologisch keine encephalitischen Veränderungen. Ein anderes Immuntier, welches seinerzeit auf einem Auge mit H. febrilis mit positivem Erfolge korneal geimpft war, welches sich später auf beiden Augen gegen eine wiederholte Reinfektion mit H. genitalis refraktär erwies und an Allgemeinerscheinungen nicht erkrankt war, verendete nach ungefähr 1 Jahre akut unter nicht beobachteten Erscheinungen. Die histologische Untersuchung des Gehirnes deckte eine diffuse leukozytäre Infiltration der Meningen, zahlreiche parenchymatöse, perivaskuläre Leukozyteninfiltrate im ganzen Gehirn und mehrere größere leukozytäre Rindenabszesse, die gegen die Meningen zu durchgebrochen waren, auf. Die früher beschriebenen eigentümlichen Kernveränderungen konnten in diesem Gehirn nicht gefunden werden. Es dürfte sich in diesem Falle um eine interkurrente, nicht herpetische, akute leukozytäre Meningoencephalitis gehandelt haben.

Die histologische Untersuchung des Gehirns der Tiere, welche mit Herpes genitalis geimpft waren, hatte folgendes Ergebnis: 1 Tier, welches nach intravenöser Injektion eines virulenten Gehirnpassagestammes nach 11 Tagen unter typischen Erscheinungen, und 1 Tier, welches nach positiver kornealer Passageinfektion nach 14 Tagen unter nicht mit Sicherheit beobachteten Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangen war, zeigten histologisch positive Befunde. 1 Tier, welches nach intravenöser Injektion von Bläscheninhalt nach 3 Tagen unter nicht charakteristischen Erscheinungen zugrunde gegangen war, zeigte histologisch im Zentralnervensystem einen normalen Befund.

Der Befund der beiden positiven Gehirne wich von den bei den Febrilistieren erhobenen nicht ab; es fanden sich die gleichen perivaskulären und parenchymatösen Infiltrate, in einem Falle Neuronophagie, in einem Falle reichliche Wucherung der Trabantzellen, in einem Falle die monozytäre Meningitis, welche in den anderen fehlte.

Bei dem Tiere, welches 14 Tage nach der kornealen Infektion unter fraglichen Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangen war, wurden auch jene eigentümlichen Kernveränderungen der Ganglien- und Gliazellen beobachtet, wie ich sie früher beim H. febrilis eingehend geschildert habe. Auch hier fand sich am reichlichsten jenes Stadium, bei der der Kern von der oxychromatischen Masse diffus ausgefüllt ist. Die Zahl der so veränderten Zellen war auch hier viel geringer als wie bei dem früher beschriebenen Falle, und die genannte Zellveränderung fand sich fast ausschließlich im Ammonshorn. Auch in diesem Falle waren leukozytäre Infiltrate (pseudoeosinophile Zellen) ziemlich reichlich, speziell in der Umgebung der Zellen mit der oxychromatischen Kerndegeneration. Die leukozytäre Infiltration erreichte hier stellenweise sehr hohe Grade, es bildeten sich hier und da kleinste Abszesse, welche im Zentrum eine krümelig nekrotische Masse einschlossen [1]).

2 Tiere also, von denen eines unter sicheren, das andere unter nicht sicheren Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangen waren, zeigten im Gehirn encephalitische Veränderungen. Der gleiche histologische Befund konnte nun aber auch bei 2 Tieren erhoben werden, die nach positiver kornealer Infektion mit H. genitalis bei genauer Beobachtung ohne typische herpetische Allgemeinerscheinungen unter langsam zunehmender Schwäche nach 18, bzw. 45 Tagen verendeten. In einem

---

1) Irgendwie geartete säurefeste kleinste Gebilde, wie sie Doerr und Zdansky vor kurzem in granulomartigen Bildungen in Schnitten von herpetischer Encephalitis beschrieben haben, konnten in diesen Herden nicht gefunden werden.

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

der beiden Fälle bestand wohl im Anschluß an die herpetische Keratitis eine Panophthalmie, und man könnte sich vorstellen, daß entweder der entzündliche Prozeß vom Auge über die Orbita in das Schädelinnere vordrang oder daß von der Panophtalmie eine Sepsis ausging, welche auch zu encephalitischen Veränderungen führte. Die Tatsache jedoch, daß sich gerade in diesem Falle nur im Hirnstamm und im verlängerten Mark die Infiltrate fanden, daß keine Meningitis bestand, und daß es sich nicht um leukozytäre, sondern um monozytäre Infiltrate handelte, sprach gegen beide Annahmen. Es handelte sich in diesen beiden Fällen also anscheinend um einen ähnlichen Befund, wie ihn die schwedischen Autoren Kling, Davide und Lilienquist nach Impfung mit ihrem Encephalitisstamm erheben konnten; sie berichteten über Tiere, die unter zunehmender Schwäche langsam zugrunde gingen und bei denen sich histologisch encephalitische Veränderungen fanden.

Zusammenhänge zwischen dem Auftreten der histologischen Veränderungen im Gehirn der an der H. genitalis-Infektion zugrunde gegangenen Tieren und der Art der Impfung, Inkubation, Dauer der Krankheitserscheinungen usw. konnten hier ebenso wenig beobachtet werden wie in den Febrilisgehirnen, mit einer Ausnahme: Das Tier, welches nach 45 Tagen zugrunde ging, zeigte nur im Mittelhirn und im verlängerten Mark perivaskuläre Infiltrate, eine Meningitis fehlte. Auf die etwaige Bedeutung dieses Befundes komme ich zurück. Es sei schließlich hervorgehoben, daß eins von den positiven Gehirnen von einem Tiere stammte, welches mit einem Hirnpassagevirus intravenös geimpft war.

Das Rückenmark wurde in wenigen Fällen histologisch untersucht. Gelegentlich fanden sich bei gleichzeitig positiven Befunden im Gehirn auch hier entzündliche Veränderungen gleicher Art.

Die Untersuchung der Gehirne von 8 Tieren, bei denen mit dem verschiedensten herpesverdächtigen Material und auf die verschiedenste Weise der Versuch gemacht worden war, eine Herpesinfektion hervorzurufen, bei denen aber dieser Versuch allem Anscheine nach mißlang, — die Tiere zeigten keinerlei herpesverdächtige Reaktion — hatten stets ein negatives Resultat. Diese Untersuchungen können für die vorliegende Arbeit insofern als Kontrollen dienen, als mit ihnen gezeigt wird, daß das von mir verwendete Tiermaterial anscheinend mit der von Oliver beschriebenen, nicht spezifischen chronischen Encephalitis, die ohne Allgemeinerscheinungen einhergeht, nicht verseucht war, daß also positive encephalitische Veränderungen mit größter Wahrscheinlichkeit auf die herpetische Infektion zurückzuführen sind.

Die histologische Untersuchung des Zentralnervensystems von Tieren, welche einerseits nach H. febrilis und andererseits nach H. genitalis-Infektion unter Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangen waren, ergab, wie früher ausgeführt, keine Differenzen, eine Tatsache, die mit der von Luger und mir und einer Reihe von Autoren (Baum, Fontana, Blanc und Cerminopetros, Doerr u. a.) vertretenen Auffassung der Identität des Febrilis- und Genitalisvirus in Einklang steht. Daß in beiden Fällen in einem kleinen Prozentsatze der Fälle trotz sicher bestandener Allgemeinerscheinungen negative histologische Befunde erhoben wurden, erklärt einerseits die eingangs hervorgehobene Tatsache, daß Luger und ich bei unseren ersten Untersuchungen im Gehirne herpeskranker Tiere keine histologischen Veränderungen fanden, und ist aber andererseits auffallend, da bis jetzt Aehnliches noch von keinem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersucher mitgeteilt wurde. Meine Befunde stehen aber auch insofern im Widerspruch zu den Angaben mancher Autoren (Da Fano, Zdansky, Le Fèvre de Arric u. a.), als sie keine Abhängigkeit der Schwere und der Art der histologischen Veränderungen von der Virulenz des verimpften Stammes, von der Inkubation, von der Dauer der Allgemeinerscheinungen usw. aufdecken konnten. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Inkubation in meinen Fällen durchschnittlich nur 10 Tage betrug, daß also meine Fälle durchweg zu den akuten Formen gerechnet werden können. Der eine Fall mit einer längeren Inkubation (45 Tage) zeigte nur perivaskuläre Infiltrate im Mittelhirn und verlängerten Mark und es fehlte eine Meningitis. Dies würde mit dem Befund von Nicolau und Poincloux übereinstimmen, welche in akuten Fällen, zu welchen sie die Fälle rechnen, die in 10—19 Tagen zum Tode führten, eine diffuse Meningitis mit mononukleären Leukozyten, entzündliche Infiltration des Gehirnparenchyms und Neuronophagien der elektiven Zone, in chronischen Fällen eine mehr lokalisierte Meningitis und perivaskuläre Infiltrate im Mittelhirn, ohne akute encephalitische Veränderung und ohne Neuronophagie der elektiven Zone fanden. Doch fand ich auch in akuten Fällen nicht immer die diffuse Meningitis und die oben angegebenen Veränderungen. Levaditi, Harvier und Nicolau glaubten feststellen zu können — wohl bei der Untersuchung von Kaninchengehirnen nach Impfung mit Encephalitis lethargica, es soll sich der histologische Befund dieser Gehirne mit denen nach Impfung mit H. febrilis decken (Zdansky u. a.), — daß die Infiltratzellen sowohl der Meningen wie der Infiltrate im Gehirn je nach der Inkubation aus polynukleären oder aus monozytären Zellen zusammengesetzt sein sollen. Bei einer Inkubation von 2—3 Tagen fanden sie Polynukleäre, bei längerer Inkubation Monozyten. Diesen Befund kann ich nun nicht bestätigen. Denn ich fand auch bei einer Inkubation von 2 und 3 Tagen monozytäre Infiltration.

Wenn Kling, Davide und Lilienquist gegen die Identitätstheorie von Doerr und Vöchting hinsichtlich des Herpes- und Encephalitisvirus auch auf Grund histologischer Unterschiede Einwände erheben, so entbehren wenigstens diese Gründe nach den vorliegenden histologischen Untersuchungen der Stichhaltigkeit, wie ja auch schon von anderer Seite (Da Fano, Schnabel, Zdansky) u. a. hervorgehoben wurde. Denn auch nach herpetischer Allgemeininfektion kann man schwere, leichte und fehlende encephalitische Veränderungen finden, solche mit und ohne Neuronophagie mit fehlender oder vorhandener leukozytärer Infiltration, mit und ohne schwerer Ganglienzellerkrankung, mit vorwiegender Lokalisation im Großhirn oder z. B. im Mittelhirn, mit größeren oder kleineren Blutungen. Und wenn die schwedischen Autoren meinen, das Encephalitisvirus von Herpesvirus auch deshalb abtrennen zu können, weil die Tiere nach Impfung mit ihrem Encephalitisstamm häufig nur unter Schwäche ohne akute klinische Erscheinungen langsam zugrunde gehen, so stehen dem die beiden früher angeführten Fälle gegenüber, bei denen 2 Kaninchen nach Infektion mit H. genitalis auch ohne schwere klinische Erscheinungen nur unter Schwäche eingingen und histologisch deutlich encephalitische Veränderungen zeigten. Im Uebrigen aber möchte ich an dieser Stelle zu den Befunden und Anschauungen der schwedischen Autoren nicht Stellung nehmen [1]).

[1]) Es sei diesbezüglich auf eine gemeinsam mit Luger verfaßte, in der Ztschr. f. d. ges. exp. Med. im Druck befindliche Arbeit verwiesen.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Welche Bedeutung die früher ausführlich beschriebenen Zell- bzw. Kernveränderungen der Ganglien- und Gliazellen mit Auftreten oxychromatischer Massen im Zentrum des Kernes für die Identitätstheorie von Doerr und Vöchting haben, darauf komme ich später zu sprechen. Ich möchte vorher noch einmal kurz die von Luger und mir vertretene Auffassung über das Wesen dieser Veränderungen darlegen und verweise hinsichtlich der Details dieser Fragen auf unsere früheren Publikationen. Wie bekannt, haben Lipschütz und Luger und ich diese Kernveränderungen vor ungefähr 2 Jahren in der mit Herpes febrilis geimpften Kaninchenhornhaut beschrieben. Während Lipschütz in diesen oxychromatischen Binnenmassen „Einschlüsse" im Sinne der Chlamydozoenlehre erblickt, stellten Luger und ich diese Veränderungen mit der von Heidenhain beschriebenen Chromatolyse in Parallele und faßten die Veränderung als einen degenerativen, destruktiven Prozeß des Kernes auf, wobei das Oxychromatin im Zentrum des Kernes zu liegen kommt, während das Basichromatin an die Kernperipherie rückt. Maßgebend für die Annahme eines Degenerationsprozesses waren uns das morphologische Bild als solches und die Tatsache, daß an dem degenerativen Prozesse die ganze Zelle beteitigt ist, maßgebend für die Ablehnung der Einschlußnatur der Gebilde das Fehlen jeglichen Beweises für den intranukleären Sitz des Virus, das Fehlen von Elementarkörperchen und die Tatsache, daß die Kernveränderung in keiner Weise spezifisch ist; denn sie findet sich, abgesehen von ihrem Vorkommen in der Haut des Menschen bei den Herpesarten (febrilis, genitalis, zoster) auch bei den Varicellen, der Variola, der Karpfenpocke, dem Epitheliom der Barben und wahrscheinlich auch beim Erythema multiforme[1]). Wir bezeichnen die Kernveränderungen als für die Impfung der Kaninchen- und Meerschweinchenkornea mit H. febrilis, genitalis, corneae charakteristisch, da wir sie in der Kornea bei einer großen Zahl von Kontrollimpfungen mit verschiedenstem Material vermißten. Der 2mal erhobene Befund der gleichen Kernveränderung im Gehirn des herpesinfiziertes Tieres bestärkte uns aus folgenden Gründen in unserer Auffassung: Die allgemeine Schädigung der ganzen Zelle ist hier vielleicht noch deutlicher zu beobachten als in der Kornea (Schwellung der Zelle, Verlust des Tigroid, Quellung und Wandstellung des Nucleolus, Wucherung der Trabantzellen, „Neuronophagie" usw.), der Endausgang der Veränderung, der Untergang des oxychromatischen Körpers im Zelldetritus der zugrunde gehenden Zelle kann hier genauer studiert werden, wobei auch wieder keinerlei Anhaltspunkte für den Sitz des Virus in der Zelle, speziell im Kern, gewonnen werden konnten. Daß die oben angeführte, manchmal auch gleichmäßige, feine Granulierung des Kernbinnenkörpers nichts mit Elementarkörperchen zu tun hat, habe ich oben schon auseinandergesetzt.

Uns schien die bisher noch nicht beschriebene Ganglienzellveränderung deshalb von Wichtigkeit, weil sie vielleicht die experimentelle Encephalitis nach Herpesimpfung als herpetische charakterisiert. Wir wären aber keineswegs erstaunt, wenn in nächster Zeit bei genauer Danachachtung die gleichen Kernveränderungen auch bei anderen encephalitischen Prozessen gefunden würden; denn wir stellten die Veränderungen ja nur als charakteristisch, keineswegs als spezifisch hin.

---

1) Hinsichtlich des Vorkommens dieser Kernveränderungen sei auf unsere früheren Publikationen verwiesen.

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Der Befund der gleichen Veränderung bei anderen Prozessen würde uns in unserer Ansicht, daß es sich nicht um „Einschlüsse" handelt, nur noch mehr vergewissern. Die beschriebene Ganglien- und Gliazellveränderung ist für die Herpesimpfung nicht pathognostisch, ebensowenig wie etwa die homogenisierende Erkrankung der Purkinjeschen Zellen für eine bestimmte Erkrankung pathognostisch wäre (Spielmayer). Daß bis nun diese eigentümlichen Kernveränderungen in den Ganglienzellen nicht bekannt sind, erklärt sich vielleicht damit, daß die zellpathologicshen Veränderungen des Zentralnervensystems meist an der Hand von Nissl-Präparaten studiert werden und gerade diese Färbung die oxychromatische Komponente des Kerns weniger hervortreten läßt.

Für die Identitätstheorie des Herpes und Encephalitisvirus ist nun der Befund unserer Meinung nach deshalb von Bedeutung, weil Levaditi und seine Mitarbeiter bei der Beschreibung der Kaninchenencephalitis nach Impfung der Tiere mit Encephalitis lethargica neben den von ihnen beschriebenen „neurocorpuscules encéphalitiques" die gleichen Kernveränderungen beschrieben und abbildeten. Der Befund von anscheinend seltenen, vielleicht charakteristischen Kernveränderungen nach Impfung mit beiden Virusarten kann als Stütze für die Identität herangezogen werden.

Ich möchte darauf hinweisen, daß Da Fano bei der Beschreibung der herpetischen Meningoencephalitis, wohl der ausführlichsten, die bis jetzt erschienen ist, die gleichen Ganglienzellveränderungen abbildet, ohne sie näher zu beschreiben. Er sagt nur an einer Stelle, daß die Nervenzellen einem rapiden Degenerations- und Destruktionsprozeß anheimfallen, wobei das Cytoplasma vakuolisiert und die chromatische Substanz sich auflöst. Es erscheint mir nach den Abbildungen, die der Autor seinen Arbeiten beigibt, außer Zweifel, daß er die gleichen Kernveränderungen gesehen hat. Im übrigen stimmen meine Befunde mit den seinen in den wesentlichen Punkten überein, auf die Unterschiede habe ich früher gelegentlich hingewiesen.

Es soll nun noch kurz zu den von Levaditi und seinen Mitarbeitern beschriebenen „neurocorpuscules encéphalitiques" und zu den „minute bodies" von Da Fano, die erstere als Einschlüsse bei der tierexperimentellen Encephalitis lethargica, letzterer bei der herpetischen Kaninchenencephalitis und der Encephalitis lethargica des Menschen beschrieben haben, Stellung genommen werden. Ich glaube auch in meinem Präparate von herpetischer Encephalitis beide Arten von Gebilden gesehen zu haben, möchte ihnen aber den „Einschlußcharakter" absprechen.

In Schnitten, in denen eine große Anzahl von Ganglienzellen die oxychromatische Kerndegeneration zeigten, konnte ich nämlich gelegentlich bei Biondi- und insbesondere bei Mannscher Färbung Stadien beobachten, bei denen das Basichromatin schon an die Kernperipherie gerückt war, bei denen sich im Zentrum des Kerns kleine, sich rotfärbende Körperchen in verschieden großer Anzahl fanden. In anderen Kernen waren diese Körnchen zu größeren, oft unregelmäßigen Körnern, diese in anderen wiederum zu noch größeren Gebilden zusammengeschlossen, Bilder, welche zu jenen Stadien hinüberführen, bei denen schließlich der ganze Kern von der früher beschriebenen oxychromatischen Masse ausgefüllt ist (s. Fig. 4). Daß die Menge der oxychromatischen Masse in den einzelnen Kernen wechselt, habe ich früher schon erwähnt. Die Stadien nun, bei denen nur sehr kleine, vereinzelte,

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach Mann und Biondi sich rot färbende Körperchen im Zentrum des Kerns zu finden sind, entsprechen vollkommen den Abbildungen der neurocorpuscules encéphaltiques von Levaditi und seinen Mitarbeitern. Ich halte daher die von ihm beschriebenen Gebilde für Oxychromatin eines in oxychromatischer Degeneration befindlichen Kernes und kann daher auch in diesen Gebilden Einschlüsse im Sinne der Chlamydozoenlehre nicht erblicken.

Da Fano unterscheidet 3 Arten von granulären Bildungen.

1) intranukleäre Partikel, die er als Teilchen des geschädigten Kernchromatins auffaßt, die basophil sind, sonst aber große Aehnlichkeit mit den neurocorpuscules encéphalitiques Levaditis und seiner Mitarbeiter zeigen.

2) Verhältnismäßig große extra- und intranukleäre Formationen; sie stammen von der progressiven Fragmentation der Kerne der verschiedensten Elemente, vornehmlich der polynukleären Leukozyten ab, und es ist sehr wahrscheinlich, daß sie mit dem Virus in irgendeiner Beziehung stehen.

3) Sehr kleine, bald extra- bald intrazellulär gelegene oxyphile Gebilde, „minute bodies". Sie stellen entweder die letzten Produkte des Zerfalls des Zelldetritus oder das Virus selbst dar. Die gleichen Gebilde finden sich auch in Ausstrichen von Herpesblaseninhalt.

Ich glaube in meinen Schnitten alle diese Gebilde auch beobachtet zu haben, möchte aber glauben, daß die Einteilung dieser granulären Gebilde in die drei genannten Gruppen nicht berechtigt ist. Meiner Meinung nach handelt es sich — wie auch Da Fano annimmt — um Chromatinreste verschiedenster Größenordnung, die von zerfallenden Zellen herrühren. Daß sie bald oxy- bald basophil sind, mag auf die früher erwähnte Amphophilie und auf das Vorhandensein zweier Chromatine (Oxychromatin, Basichromatin) zurückgeführt werden. Daß wir in den kleinsten Partikeln das Virus selbst zu suchen hätten, dafür scheint mir kein Beweis vorzuliegen. Was die „minute bodies" in den Herpesblasenausstrichen anlangt, so meint Da Fano, daß kein Zweifel bestehen kann, daß es sich um identische Bildungen handle, wie sie schon Löwenstein in den Herpesblasenausstrichen gesehen hat. Luger und ich haben schon in früheren Arbeiten darauf hingewiesen, daß wir zahlreiche Herpesblasenausstriche auf die von Löwenstein beschriebenen Elementarkörperchen-ähnlichen Gebilde untersucht haben, daß wir anscheinend gleiche Gebilde gesehen haben, daß diese Befunde aber zu wenig charakteristisch und zu wenig regelmäßig waren, um ihnen eine besondere Bedeutung zuerkennen zu können. Wir sahen ähnliche Bilder auch in Abstrichen von nicht-herpetischen Affektionen.

Da die von Ottolenghi, D'Antona und Tonietti gefundenen Encephalitiseinschlüsse auch bei normalen Individuen gefunden wurden, die von Volpino und Desderi als spezifische Einschlüsse auch keine Anerkennung fanden, die von Luksch und Herzog gefundenen Gebilde als identisch erkannt und von Luksch in älteren pigmentierten Ganglienzellen auch in Normalgehirnen gefunden werden konnten, so muß man, wenn man nach den obigen Darlegungen auch den Einschlüssen von Lipschütz, von Levaditi und seinen Mitarbeitern und von Da Fano die Spezifität abspricht, zusammenfassend über alle bis jetzt bei Herpes und Encephalitis gefundenen „Einschlüssen" sagen, daß sie, was ihre Einschlußnatur anlangt, einer Kritik nicht standhalten. Es sei hier nebenbei erwähnt, daß auch die von Joest bei der Borna-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schen Encephalitis der Pferde beschriebenen intranukleären Einschlüsse von Luksch als mit seinen, später auch in Normalgehirnen gefundenen „Einschlüssen" identisch befunden wurden.

Bedenkt man schließlich, daß die gleiche monozytäre Meningitis, die perivaskulären und parenchymatösen Infiltrate und Gliawucherung wie bei der experimentellen Encephalitis nach Impfung mit Herpes oder mit Encephalitis lethargica auch beim Fleckfieber, der Wut, der Schlafkrankheit, der Bornaschen Encephalitis der Pferde, der Poliomyelitis, bei bakteriellen Erkrankungen usw., wenn auch in zum Teil geringerem Grade gefunden wurden, so ergibt sich — Zdansky hat dies schon hervorgehoben — daß dem morphologischen Befunde der herpetischen und encephalitischen Veränderungen im Zentralnervensystem eine Spezifität in keinem Punkte zugesprochen werden kann. Ob die früher eingehend beschriebene Kernveränderung für die herpetische Encephalitis tatsächlich als charakteristisch aufzufassen ist, wird sich erst sagen lassen, wenn eingehende Untersuchungen an einem großen Material vorliegen werden.

Schlußsätze.

1) Die histologische Untersuchung der Gehirne von 13 nach Herpes febrilis-Impfung unter Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangenen Tieren ergab nur in 5 Fällen deutliche encephalitische Veränderungen; in 6 Fällen waren sie gering, in 2 Fällen fehlten sie fast vollständig.

2) Von 5 mit Herpes genitalis geimpften Tieren zeigten 4 deutliche, eines nur ganz geringe histologische Veränderungen im Gehirn.

3) Die histologischen Befunde der Gehirne von Kaninchen nach H. febrilis- und genitalis-Impfung sind prinzipiell die gleichen.

4) Eine Abhängigkeit der Schwere der encephalitischen Veränderungen von Inkubation und klinischen Symptomen, die die Tiere boten, konnte nicht nachgewiesen werden.

5) 2 Tiere, welche nach Genitalisimpfung ohne Allgemeinerscheinungen, nur unter Schwäche langsam verendeten, zeigten histologisch deutliche encephalitische Veränderungen. Die Trennung des Herpes- und Encephalitisvirus auf Grund der histologischen Befunde erscheint nicht gerechtfertigt.

6) Sowohl nach Herpes febrilis wie nach Genitalisimpfung konnte gelegentlich in encephalitischen Gehirnen an Ganglien- und Gliazellen die gleiche Kernveränderung gefunden werden, wie sie Lipschütz und Luger und Lauda in der Kaninchenkornea nach Impfung mit Herpes beschrieben haben. Es wird an der Deutung derselben als Produkt einer oxychromatischen Degeneration des Kerns festgehalten, und es werden neue Stützen für diese Anschauung gegeben.

7) Der Umstand, daß Levaditi und seine Mitarbeiter analoge Kernveränderungen nach Impfung mit Encephalitis lethargica beschrieben haben, ist mit Rücksicht auf die Hypothese der Einheitlichkeit des Herpes- und Encephalitisvirus von besonderem Interesse.

8) Der Befund von Gebilden im Kern, wie sie Levaditi und seine

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Mitarbeiter als „neurocorpuscules encéphalitiques" im Kaninchengehirn nach Impfung mit Encephalitis lethargica beschreiben, wird auch in Herpesgehirnen erhoben. Eine Einschlußnatur kann diesen Gebilden nicht zuerkannt werden; es handelt sich um ein Stadium der oxychromatischen Degeneration des Kernes. Die neurocorpuscules encéphalitiques sind ebensowenig wie die „minute bodies" von Da Fano als für die Herpes-Encephalitisinfektion spezifisch anzusehen.

Nach Abschluß dieser Arbeit erhielt ich von Zdansky den Separatabdruck seiner Arbeit „Zur pathologischen Anatomie der durch das Herpes-Encephalitisvirus erzeugten Kaninchenencephalitis" (Frankfurt. Ztschr. f. Pathol. Bd. 29. 1923.) Es war mir bis dahin nur das kurze Referat seines Vortrages in der pathologischen Abteilung der Hundertjahrfeier deutscher Naturforscher und Aerzte, Leipzig 1922, zugänglich.

Die strenge Einteilung des Ablaufes der Kaninchenencephalitis in drei wohlcharakterisierte Stadien, Initial-, exsudativ-leukozytäres, proliferatives Stadium, konnte ich bei meinen Untersuchungen nicht feststellen. Daß ich eine Abhängigkeit der Art des histologischen Prozesses von der Krankheitsdauer und dem Ablauf der Erkrankung ebenfalls nicht beobachtete, habe ich schon früher auseinandergesetzt. Auffallend erscheint mir, daß auch Zdansky anscheinend nur ausnahmsweise einen negativen histologischen Befund erheben konnte. Er findet Hyperämie allein nur ganz im Beginn der Erkrankung.

Besonderes Interesse verdient die Tatsache, daß Zdansky anscheinend die gleichen Kernveränderungen im Gehirn von Tieren nachgewiesen hat, welche nach Infektion mit menschlicher Encephalitis epidemica zugrunde gegangen waren. Er charakterisiert diese Kernveränderung mit „Auftreten eines oder mehrerer strukturloser tropfiger Gebilde im Kerninnern meist in der Umgebung des Kernkörperchens, welche in größeren Tropfen und unregelmäßig geformten Gebilden zusammenfließen, um schließlich den ganzen Kern mit einer wachsig aussehenden Masse zu erfüllen. Diese vollkommen homogenen Kerndegenerationsprodukte färben sich leicht mit basischen und sauren Farbstoffen. Sie drücken bei ihrer Volumzunahme das körnige Chromatin der Kernmembran an, bis dieses vollkommen verschwindet." Zdansky hält diese Kernveränderung für analog mit dem von Luger und mir im Kornealepithel bei der Keratitis hepatica gefundenen und schließt sich unserer Auffassung derselben insofern an, als er meint, daß diese Bildungen für den herpetischen Infekt nicht als spezifisch anzusehen sind. Seine Meinung, daß dem pathologisch-anatomischen Prozeß der experimentellen Kaninchenencephalitis überhaupt eine Spezifität nicht zugesprochen werden kann, deckt sich vollauf mit meiner früher dargetanen Auffassung.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Herpetische Kaninchenencephalitis. Perivaskuläre Infiltrate. Die infiltrierte Gefäßwand links oben längsgetroffen.

Fig. 2. Herpetische Kaninchenencephalitis. Gyrus hippocampi. Fast sämtliche Ganglienzellen zeigen die oxychromatische Kerndegeneration (s. Fig. 3).

Fig. 3 a, b, d. Degenerierende Ganglienzellkerne bei starker Vergrößerung. Die oxychromatische Binnenmasse hat sich in a von der Kernmembran etwas retrahiert, in b füllt sie den ganzen Kern aus; in d sind noch Basichromatinreste zu sehen; c Gliazellkern mit analoger Veränderung: e Ganglienzelle des Ammonshorn, Verlust des Tigroids, beginnende oxychromatische Kernveränderung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

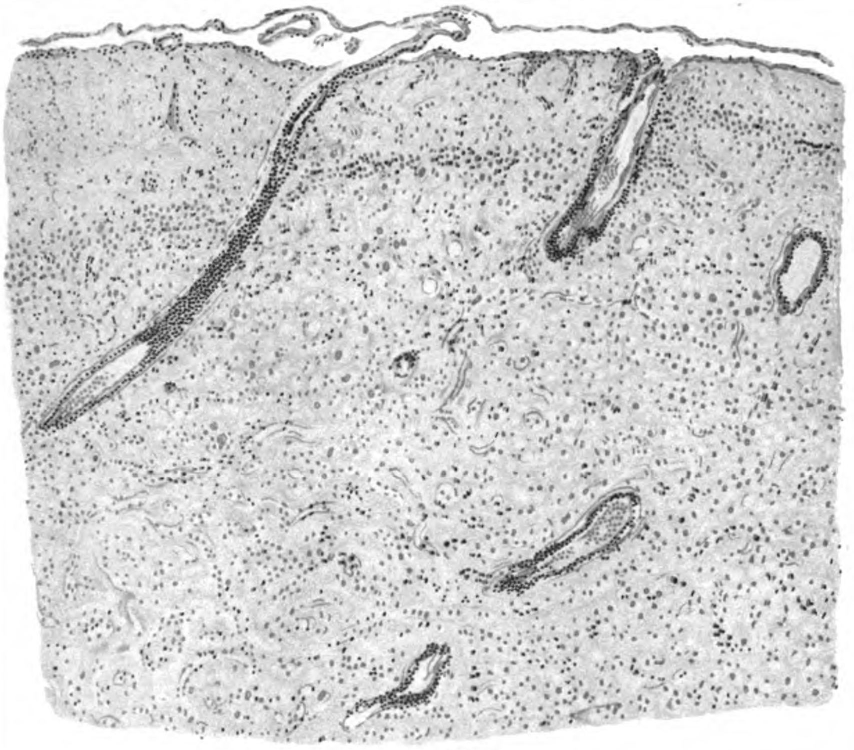


Fig. 1.

Fig. 2.

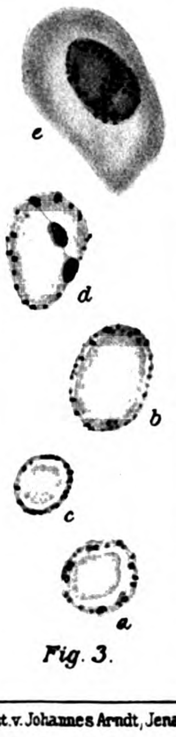


Fig. 3.

Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Fig. 4.

Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Fig. 4. Ganglien- und Gliazellkerne in verschiedenen Phasen der oxychromatischen Degeneration bei Mannscher Färbung. In einigen Kernen (Mitte links) erscheint das Oxychromatin in Form von roten, kleinen Gebilden, welche den neurocorpuscules encéphalitiques von Levaditi und seinen Mitarbeitern entsprechen.

Literatur.

Alzheimer, zit. nach Spielmayer. — Baum, Dermat. Wochenschr. 70. 1920. S. 105. — Berger, Wien. klin. Wochenschr. 1922. Nr. 41. — Blanc, Compt. rend. l'Acad. d. Sc. 14. III. 1921. — Blanc et Caminopetros, Compt. rend. Soc. d. Biol. 9. IV., 13. IV., 14. V. 1921. — Creutzfeld, zit. nach Spielmayer. — Doerr u. Berger, Schweiz. med. Wochenschr. 1922. Nr. 35. — Ders. u. Schnabel, Ztschr. f. Hyg. Bd. 94. 1921. — Ders. u. Vöchting, Rev. gén. d'ophth. T. 34. 1920. p. 409. — Ders. u. Zdansky, 35. Kongr. f. inn. Med. in Wien. — Da Fano, Brit. med. Journ. Okt. and Jänner 1921; The Journ. of Pathol. and Bact. Vol. 26. 1923. — Le Fèvre de Arric., Compt. rend. Soc. d. Biol. T. 87. 1922. p. 785; Kg. Cbl. 1923. S. 314. — Fontana, Pathologica. Oct. 14. No. 315. — Heidenhain, Bardeleben, Hdb. d. Anat. d. Mensch. VIII. 1 u. 2. S. 144 ff.; Arch. f. mikr. Anat. 35. S. 173. — Herzog, zit. nach Luksch. — Jakob, Disk. Vortr. Paschen Klin. Wochenschr. I. Nr. 13. S. 656. u. Nr. 17. 1876. — Joest u. Degen, Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 9. 1911. u. 6. 1909. — Kling, Ws. Arch. f. inn. Med. 6. 1923. S. 101. — Kling, Davide, Lilienquist, Cbl. f. d. ges. Hyg. 1922. S. 346; Ref. aus Compt. rend. d. l. Soc. d. Biol. T. 87. 1922. Nr. 21, p. 75; T. 87. 1922. Nr. 21, p. 77; T. 87. 1922. Nr. 21. p. 79; T. 87. 1922. Nr. 25. p.486; T. 87. 1922. Nr. 27. p. 771; T. 85. Nr. 37. p. 1182. — Lauda, W. kl. Wr. 1923. Nr. 13. — Levaditi, Harvier u. Nicolau, Ann. l'Inst. Past. T. 36. 1922. p. 75. — Lipschütz, Wien. med. Woch. 1921. Nr. 5; ebenda. 1920. Nr. 38. S. 836; Arch. f. Derm. u. Syph. 136. 1922. H. 3. — Luger u. Lauda, Wien. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 12 u. 21; Zbl. f. ges. exp. Med. Bd. 34. 1921. S. 289; Ztschr. f. Hyg. Bd. 94. 1921. 2/3; Kl. W. I. Nr. 32 u. II. Nr. 19. — Dies. u. Silberstern, Ztschr. f. Hyg. Bd. 92. 2/3. — Luksch, Ziegl. Beitr. Bd. 71. S. 201. — Mittasch, zit. nach Luksch. — Nicolau u. Poincloux, ref. Kongr.-Zbl. 13. Nov. 1922. S. 70. — Oliver, Journ. of Dis. Vol. 30. 1922. — Ottolenghi, D'Antona e Tonietti, Policlin. 1920. Nr. 39. p. 1075. — Salmann, Sitzungsber. d. Ophthal. Ges. v. 14. März. 1921. — Schnabel, Disk. z. Vortrag Zdansky, Hundertjahrfeier d. d. Naturf. u. Aerzte. Leipzig 1922. — Spielmayer, Histopathologie d. Zentralnervensystems. Berlin 1922. — Vegni, Rif. med. 1922. p. 270. — Volpino u. Desderi. — Wohlwill, Kl. W. I. S. 656. — Zdansky, Hundertjahrfeier d. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Leipzig 1922; Ref. Klin. W. 1922. S. 2306.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zur Morphologie der Spirochaeta Obermeieri[1]).

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität zu Kasan (Direktor Prof. W. Aristowsky).]

Von Prof. **W. Aristowsky** und Assistenten **R. Höltzer.**

Mit 1 Tafel.

Mit der in den letzten Jahren gemachten Entdeckung einer ganzen Reihe neuer, für den Menschen pathogener Spirochäten (Spir. icterogenes, Erreger der Weilschen Krankheit, Leptospira icteroides, Erreger des gelben Fiebers, Spir. hebtomadis, Erreger des 7-Tage-Fiebers, Spir. polysclerotica, Erreger der Sclerosis multiplex u. a.)

1) Vortrag, gehalten auf dem VII. Allrussischen Kongreß der Bakteriologen und Epidemiologen vom 22.—28. Mai 1923 in Moskau.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gewinnen die Spirochäten sehr an Bedeutung. Obgleich die 1. für den Menschen pathogene Spirochäte, das Spir. Obermeieri, von Obermeier schon 1868 gefunden und der Name „Spirochaeta" schon von Ehrenberg 1835 aufgestellt worden ist, sind doch noch viele die Spirochäten betreffende Fragen jetzt noch ungelöst. So z. B. die über die Stellung der Spirochäten im System der Mikroorganismen und die Geschichte ihrer Entwicklung. Die Ursache hiervon ist auf das Fehlen einer sicheren Methode zur Züchtung der Spirochäten zurückzuführen.

Erst mit dem in den letzten Jahren erfolgten weiteren Ausbau unserer Kenntnisse der Spirochäten wurden auch diesbezüglich große Fortschritte gemacht, so daß wir jetzt fast alle pathogenen Spirochäten in vitro züchten können, und zwar nicht nur in halbstarren, sondern auch auf flüssigen Nährböden, was sehr wichtig ist, weil sich dadurch die Möglichkeit bot, die Beobachtungen über die Spirochäten in viel größerer Breite vorzunehmen, als dies in der Zeit der Fall war, wo die pathogenen Spirochäten nur in den Säften und Geweben des kranken Organismus beobachtet werden konnten.

In vorliegender Mitteilung wollen wir unsere Beobachtungen über die Morphologie der Spirochaeta Obermeieri mitteilen, die wir bei der Züchtung dieser Spirochäten machen konnten, mit der von Prof. Aristowsky angegebenen Methode.

Diese Originalmethode ist ausführlich im „Kasansch. Medicin. Journal" 1921, Nr. 1, und 1922, Nr. 3, beschrieben worden und soll hier kurz mitgeteilt werden: Für die Züchtung und Erhaltung des Spirochätenstammes in vitro im Laboratorium benutzen wir 2 Nährböden, deren erster aus 8 ccm physiol. Kochsalzlösung, 4 ccm frischen Pferdeserums (von jungen Pferden) und einem Stückchen Blutgerinnsel aus Pferde- oder Menschenblut besteht. Ebenso wird der Nährboden Nr. 2 hergestellt, nur wird das Blutgerinnsel durch ein Stückchen hart gekochten Hühnereiweißes ersetzt. Bei der Anlegung der Kultur aus dem Blute kranker Menschen werden mit 1—3 Tropfen des Blutes oder Serums des Kranken beide Nährböden beimpft, worauf Wachstum entweder auf beiden oder auf einem derselben erfolgt. Um weitere Generationen zu erhalten, werden Ueberimpfungen vom Nährboden Nr. 1 auf den Nährboden Nr. 2 und Nr. 1 gemacht, vom Nährboden Nr. 2 aber nur auf Nährboden Nr. 1, und zwar müssen diese Ueberimpfungen nach 48 und 72 Std., in seltenen Fällen auch nach 96 Std. vorgenommen werden. Die beimpften Röhrchen werden mit Wattepfropfen verstopft (Aufgießen von Paraffinöl ist überflüssig) und in den Brutschrank bei 35° C gestellt. Das Maximum des Wachstums zeigt sich am 2., 3. oder erst 4. Tage. In der Regel treten schon am 5. Tage in der Kultur Rückbildungserscheinungen auf.

Mit dieser Methode hat man die Spirochätenkultur in vitro in einer unendlichen Zahl von Generationen erhalten. Unsere Beobachtungen wurden an Material gemacht, das wir bei der Züchtung eines Stammes der Spirochaeta Obermeieri in vitro erhalten haben, den wir unmittelbar aus dem Krankenblute im Februar 1922 ausgeschieden hatten, und der im Laboratorium bis jetzt im Röhrchen schon 200 Generationen geliefert hat.

Beim Studium der Morphologie der Spirochäten in Reinkultur fällt sehr bald die Veränderlichkeit und Mannigfaltigkeit der Formen bei denselben auf, die abhängig von einer ganzen Reihe von Bedingungen sind, weswegen die Bedeutung beständiger Gattungsmerkmale mancher morphologischer Eigenschaften der Spirochäten verneint werden muß, weil

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

es sich um Uebergangseigenschaften handelt, die von Züchtungsbedingungen, dem Alter der Kultur oder unbekannten Bedingungen abhängen, die aber jedenfalls außerhalb der Spirochäten selbst liegen.

Vor allem fällt bei der Züchtung der Spirochaeta Obermeieri nach unserer Methode sehr die Längenveränderlichkeit der Spirochäten auf, die teils vom Nährboden, teils von dem Alter der Kultur abhängen. Leicht können aus 2 Kulturen desselben Stammes bei einer oft neben Spirochäten mittlerer Länge auch Exemplare, die sich über das ganze Gesichtsfeld des Mikroskopes ziehen und 50 oder sogar mehr Windungen haben, sich finden, während die andere Kultur aus dicht nebeneinander liegenden echten Zwergformen mit nur 3–4 Windungen besteht. Nach unseren Beobachtungen wachsen lange Formen meistens auf dem Nährboden Nr. 2 (mit einem Stückchen hart gekochten Hühnereiweißes), besonders wenn man nacheinander einige aufeinanderfolgende Ueberimpfungen auf diesem Nährboden ohne Abwechselung mit dem Nährboden Nr. 1 macht. Weil die Spirochäten, wie erwähnt, bei diesem Verfahren langsam degenerieren und die Kultur eingeht, wurde größerer Wert auf Bildung langer Formen in den Kulturen als auf die Entartung wegen ungünstiger Wachstumsbedingungen gelegt. Erwähnt sei noch, daß die Ueberimpfungen von Kulturen mit sehr langen Formen auf frische Nährböden, selbst bei Wechsel der Nährböden, meist negativen Erfolg haben.

Auf den Einfluß des Nährbodens auf die Größe der Spirochäten hat schon Zuelzer hingewiesen. Bei der Züchtung der Spirochaeta icterogenes auf Kaninchenserum besteht diese aus 12—15 Windungen, wird sie aber auf Eselserum gezogen, so weist sie bis zu 120—150 und mehr Windungen auf.

Kleine Formen der Spirochäten kann man in einzelnen Exemplaren in jeder Kultur finden, doch bekommt man unter gewissen Bedingungen Kulturen, die aus Spirochäten mit 3—5 Windungen bestehen, so z. B. auf einem Nährboden mit Blutgerinnsel (öfter), desgleichen auf solchem mit einem Stückchen Hühnereiweiß (seltener), aber in der Regel, nachdem die Röhrchen 3 oder 4—5 Tage im Brutschranke gestanden haben, d. h. in alten Kulturen, die gewöhnlich Rückbildungsmerkmale aufweisen. In an kleinen Formen reichen Kulturen finden sich vorwiegend bewegliche Exemplare von Spirochäten im Zustande lysischen Zerfalles, und endlich eigentümliche Formen, die wir als „Spirochätenschatten“ bezeichnen, d. h. Bildungen mit undeutlichen Konturen, aus feinsten Granulis bestehend, die aber von Geübten sich leicht als Spirochäten feststellen lassen. Ueberimpfungen aus solchen Kulturen auf frische Nährböden bleiben oft erfolglos, d. h. weitere Generationen gelingen nicht, oder man bekommt bei Ueberimpfung eine neue Generation von Spirochäten, die aber schon nach 24 Std. anstatt kleiner Formen von gewöhnlicher mittlerer (nach unserer Meinung normaler) Größe sind. Wir können die Ansicht anderer Autoren nicht teilen, welche die kleinen Formen der Spirochäten als junge lebensfähige, unter besonders guten Bedingungen auftretende Spirochäten betrachten (Zuelzer, Moschkowsky), als ob es sich um Bakterien handelte. Wir halten diese vielmehr für nicht mehr lebensfähige Formen, die bald zugrunde gehen. Sie scheinen aufzutreten, wenn sich in flüssigen Nährböden Stoffwechselprodukte der Spirochäten ansammeln, die ungünstig auf ihre Entwicklung einwirken. Es entstehen also ebenso Riesenformen wie auch die kleinen Formen der Spirochäten unter ungünstigen Bedingungen, nor-

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

male Spirochäten sind nur diejenigen mittlerer Größe mit 10—12 Windungen, wie sie gewöhnlich im Blute kranker Menschen vorkommen Kulturen, die sehr viele solcher Formen enthalten, sind daher am geeignetsten zur Erzielung weiterer Generationen durch Ueberimpfungen auf frische Nährböden. Zu lange Formen teilen sich nicht so, wie dies in der Regel unter normalen Bedingungen der Fall ist, und zeigen Merkmale, die deutlich auf verzögerte Teilung hindeuten. Man sieht bei Beobachtungen solcher lebender Formen bei Dunkelfeldbeleuchtung, wie diese langen Spirochäten bei ihren Bewegungen sich unter geradem oder sogar stumpfem Winkel umbiegen, und zwar immer an bestimmten Punkten, den Stellen zukünftiger Teilung. Die Zahl dieser Punkte entspricht der Teilung zwar nicht bei 2, wohl aber bei 4—5 oder mehr Exemplaren, und bei weiteren Beobachtungen dieser Spirochäten sieht man deutlich, daß an diesen Stellen feine, kaum sichtbare, protoplasmatische Gerüste (Brücken) entstehen, aus denen sich von einer schließlich langen Spirochäte ein neues Einzelwesen von mittlerer Größe abtrennt.

Die Spirochäten teilen sich in den Kulturen nicht nur in 2, sondern auch in 3—5 und mehr Teile, wie Zuelzer angibt, und zwar nicht nur die Recurrensspirochäten, sondern auch Spirochaeta gallinarum, icterogenes und Spir. pallida. Bei der Spirochaeta pallida ist dies deswegen wichtig, weil als eines der charakteristischen Merkmale der Treponema die obligate Teilung in 2 Hälften von Hartmann und Schilling angegeben wird. Es kann sich also die Zweiteilung der Spirochäten im tierischen Organismus unter dem Einflusse des Nährbodens ändern, und die Spirochäten können sich in 3—5 Teile teilen. Daher kann dieses Merkmal wie auch die Länge der Spirochäten und Zahl der Windungen nur relativen Charakters sein.

Involutionsformen sind Spirochäten, welche die Windungen entweder in ihrer ganzen Länge, oder nur in bestimmten Teilen des Körpers verloren haben. Zuweilen finden sich Spirochäten im Stadium der Querteilung, d. h. 2 Spirochäten, von denen die eine gewundene, die andere aber ganz frei von Windungen ist, sind durch protoplasmatisches Gerüst verbunden.

Bei der Rückbildung der Kultur kann man leicht Erscheinungen lysischen Zerfalles sehen, wie z. B. die oben genannten Spirochätenschatten, außerdem finden sich in solchen Kulturen in der Mehrzahl gut erhaltene Formen, doch ohne Beweglichkeit.

Auf manchen solcher Spirochäten finden sich besondere Gebilde in Form kleiner Ringe (bei Dunkelfeldbeleuchtung) im Zentrum der Spirochäte, oder der Länge nach an der Seite. Sie erscheinen in nach Giemsa gefärbten Präparaten als intensiv violette, runde Körnchen. Außer diesen Formen findet man in alten Kulturen allerhand Uebergangsformen von den soeben erwähnten unbeweglichen Spirochäten bis zum sogenannten Spirochätenschatten.

Schon in unserer 1. Arbeit über die Züchtung der Spirochaeta Obermeieri hatten wir auf die in alten Kulturen von Zeit zu Zeit auftretende Konglomeration der Spirochäten (sogen. sternartige Figuren der Spirochäten) hingewiesen. Vorher aber traten in unseren Kulturen paarweise längs der Achse vereinigte Spirochäten auf, dicht aneinander liegend, die sich scheinbar umwindend, verwickelnd und oft an manchen Stellen sich gegenseitig an den Enden oder in der Mitte berührend, sich dann bald voneinander trennend, bald wieder vereinigend. Solche Figuren gaben einigen Forschern Veranlassung, von einer Längsteilung der Spiro-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

chäten zu sprechen (Prowazek, Schaudinn, Skokalski), andere Autoren aber betrachteten sie als Kopulationserscheinungen (Löwenthal, Perrin, Krzystallowicz, Siedlecki).

Diese Erklärung halten wir für sehr gezwungen und möchten diese Erscheinung eher als einzelnen Fall der Spirochätenkonglomeration betrachten, die schließlich zur Bildung von Knäueln von 10 und mehr gesonderten Exemplaren führt. Diese Zusammenhäufung der Spirochäten findet sich bekanntlich am Ende des Anfalls beim Recurrenstyphus im Blute der Kranken und wird gewöhnlich als Spirochätenagglutination behandelt, die durch Vermehrung des Gehaltes an spezifischen Immunkörpern und Agglutininen hervorgerufen wird. Ohne diese Tatsache leugnen zu wollen, glauben wir doch, daß man bei der Deutung derselben sehr vorsichtig sein muß, da möglicherweise Spirochätenkonglomeration ohne irgendwelchen Anteil der Agglutinine, z. B. bei der Spirochätenzüchtung, vorkommt. — Gegenwärtig können wir leider, da nicht genügende Beobachtungen vorliegen, die Ursachen der Konglomerate in den Kulturen und des Auftretens der zahlreichen sternförmigen Figuren nicht erklären. Lange Erfahrungen in der Spirochätenzüchtung nach unserer Originalmethode lassen aber keinen Zweifel bezüglich des periodischen Auftretens dieser Erscheinung in einer ganzen Reihe von Generationen. Ferner ist zu bemerken, daß Kulturen, die reich an sternförmigen Figuren sind, in jedem Falle lebensfähig sind und leicht weitere Generationen geben; sie können daher nicht als degenerierte und absterbende Kulturen betrachtet werden.

Ein wichtiges morphologisches Merkmal bei der Spirochätenklassifikation nach Hartmann-Schilling ist der Charakter der Primärwindungen und ihr Verhalten bei der Bewegung der Spirochäte. Für die Spirochaeta pallida wäre das Hauptkennzeichen die gedrechselte Gestalt infolge präformierter Unbeweglichkeit (Starrheit) der plasmatischen Spiralen, die nach Zuelzer in Kulturen der Syphilisspirochäten, aber nicht beständig, auftritt. In Kulturen finden sich Bilder, in denen der Syphiliserreger mehr dem Typus von der Recurrensspirochäte als dem der Spirochaeta pallida gleicht. Aber auch bei den Recurrensspirochäten ist nicht immer der Charakter der Windungen beständig, wobei der Einfluß des Nährbodens von außerordentlicher Bedeutung ist. So haben die Recurrensspirochäten im Organismus der Maus nach Zuelzer lockere und unregelmäßige Windungen, die sich bei verschiedenen Bewegungen der Spirochäte ändern, wogegen dieselben Spirochäten in flüssigen Serumnährböden zusammengedrängte, regelmäßige Windungen haben, die sich bei den verschiedensten Bewegungen der Spirochäte nicht ändern.

In unseren Kulturen der Spirochaeta Obermeieri zeigte sich aber ein durchaus anderes Verhalten, denn neben der erwähnten kamen auch andere Formen vor, und zwar beide Formen gleichzeitig in derselben Kultur unter Dominieren der einen oder anderen Form, doch waren Spirochäten mit regelmäßigen Windungen am häufigsten. Zu bemerken ist noch, daß einzelne lebende Spirochäten mit unregelmäßigen Windungen außerdem viel beweglicher als andere waren und sich zuweilen schnell in einen Klumpen zusammendrehten, sich nach kurzer Ruhe wieder schnell in die Länge streckten, um sich nach einiger Zeit abermals in kleine Klumpen umzuwandeln, in denen ein ungeübtes Auge die Spirochäte nur schwer erkennen kann. In dieser Zeit nehmen die Spirochäten oft die als Einrollung beschriebene Gestalt an, welche

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von verschiedenen Autoren verschieden erklärt wird: Prowazek sowie Mayer halten solche Spirochäten für Ruheformen, van der Borne für junge, Levaditi für degenerierte, Marzinowsky für standhafte Formen der Parasiten, welche sich im kranken Organismus während der Apyrexie erhalten und aus welchen beim Beginne des Anfalles vegetative Formen entstehen.

Unbestreitbare Beweise für oder gegen diese Ansichten haben wir nicht. Nur bezüglich der Ansicht von van der Borne, welcher die betreffenden Formen für junge Individuen hält, können wir angeben, daß nach unseren Beobachtungen Einrollungsformen gewöhnlich in reifen oder sogar alten Kulturen erscheinen, und zwar meistens am Ende der normalen Kulturentwicklung, was nicht im Widerspruch zu den Ansichten von Prowazek, Mayer, Marzinowsky und Levaditi steht. Mit unseren an solchen Einrollungsformen reichen Kulturen machten wir Versuche über die Potenz der Lebensfähigkeit dieser Formen, die aber keine bestimmten Erfolge hatten. Sie systematisch zu wiederholen, hatten wir leider keine Gelegenheit, da an Einrollungsformen reiche Kulturen sehr selten sind. Unter 200 Generationen des Laboratoriumsstammes der Spirochaeta Obermeieri kamen in der Zeit von ca. $1^1/_2$ Jahren solche Kulturen nur 3- oder 4mal vor. Ueberimfungen aus an Einrollungsformen reichen Kulturen auf frischen Nährböden gaben in einigen Fällen ein positives, in anderen negatives Resultat. In den ersteren Fällen hatten die neuen Generationen der Spirochäten gewöhnliches Aussehen. Einrollungsformen konnten wir aber dort schon 24 Std. nach Ueberimpfung nicht vorfinden.

Eine ganze Reihe anderer Bildungen außer den Einrollungsformen wird von einigen Autoren als besonderes Stadium der Spirochätenentwicklung betrachtet, so z. B. der körnige Zerfall, welcher von Zopf, Warming, Leishman, Balfour, Fantham, Hindle, Balfour und O'Farell sowie Hoffmann beschrieben wird bei freilebenden Spirochäten wie auch pathogenen in Kulturen und im Blute von Kranken und in Organen infizierter Tiere (Zecken). In unseren Kulturen bemerkten wir mehrmals kleine, stark lichtbrechende Granula. Unsere Versuche, durch Züchtung die Möglichkeit des Wachsens von Spirochäten aus diesen Granulis zu beweisen, waren erfolglos, was auch mit den Angaben in der Literatur übereinstimmt. Nur Noguchi berichtet über diesbezügliche gelungene Versuche mit der Kultur der von ihm entdeckten Spirochäte des gelben Fiebers: In Kulturen, die 6 Wochen gestanden hatten, verschwanden alle Spirochäten, und statt ihrer waren zahlreiche, stark lichtbrechende Körner sichtbar, doch blieb die Virulenz in solchen Kulturen nach Beobachtungen Nogouchis erhalten.

Unsere Beobachtungen bezüglich der Morphologie der Spirochaeta Obermeieri zeigen, daß eine ganze Reihe morphologischer Eigentümlichkeiten zuweilen verschiedene widersprechende Erklärungen zuläßt, so z. B. die sich verwickelnden Spirochäten, die sternartigen Figuren, Einrollungsformen, der körnige Zerfall. Obgleich wir gegenwärtig auf eine ganze Reihe von Fragen keine Antwort geben können, lassen doch unsere Untersuchungen die Möglichkeit zu, einige Urteile zu bilden, wenn auch in der Art einer mehr oder weniger wahrscheinlichen Voraussetzung, so z. B. bei den Beobachtungen, welche auf ein bestimmtes periodisches Verhalten bei der Spirochätenzüchtung hinweisen.

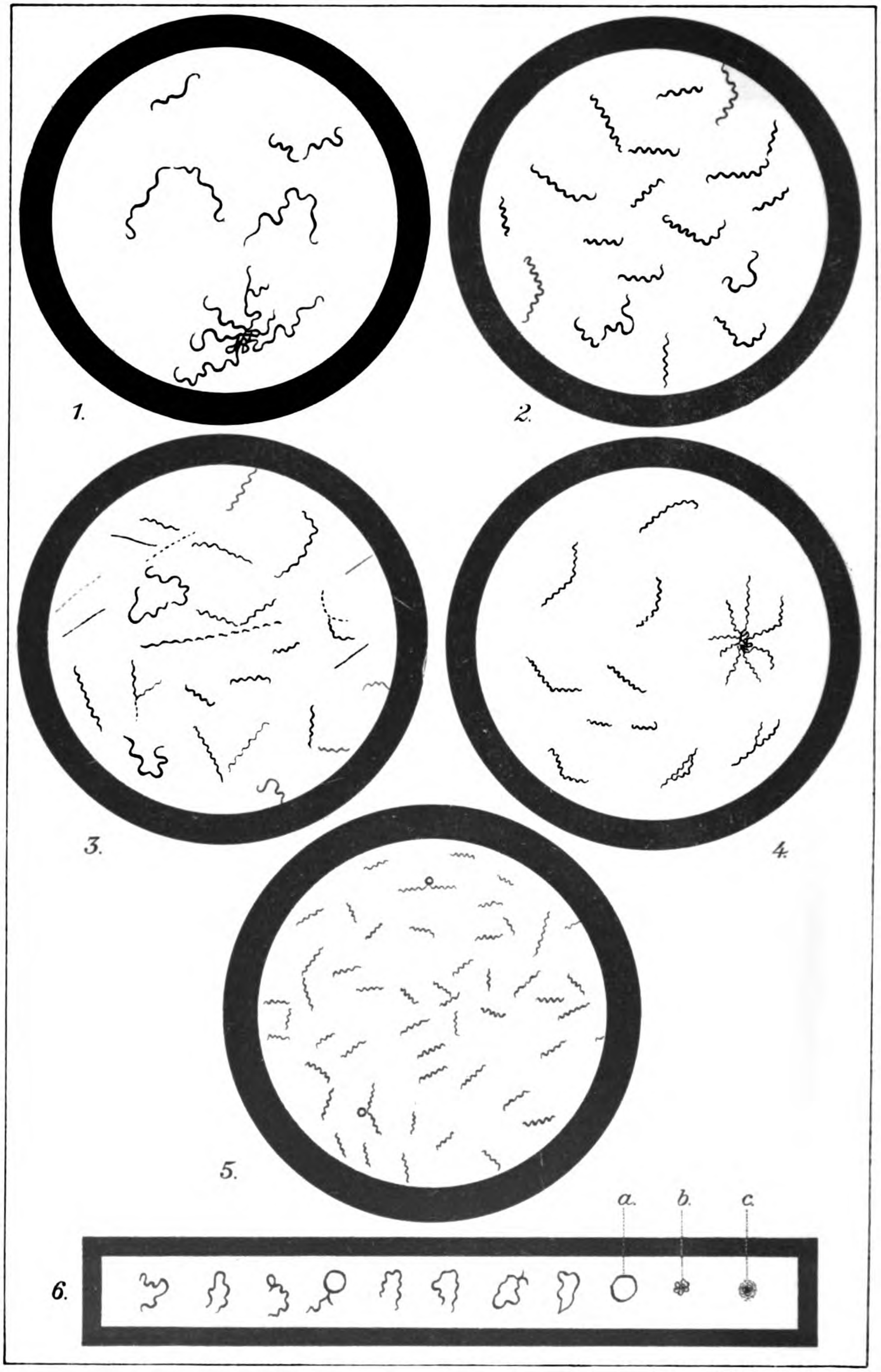
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von Gustav Fischer in Jena.
Lith Anst. v. K. Wesser Jena.

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Als charakteristisch bei unserer Züchtungsmethode ist der Wechsel der Nährböden zu nennen, wodurch man eine unendliche Zahl von Generationen erhält, sowie ferner der Reichtum einzelner Generationen an Spirochäten und die Leichtigkeit, sich auch hier von dem periodischen Wesen der Erscheinungen zu überzeugen. In der Regel erstreckt sich das reichliche Wachstum der Spirochäten auf unseren Nährböden auf mehrere Generationen, worauf in den folgenden Generationen ein scharfes Nachlassen des Wachstums eintritt. Wir finden dann in den Kulturen nur 3—5 Spirochäten im Gesichtsfeld, statt 30—40 in den vorhergehenden Generationen. Diese Periode des geringen Wachstums ist nicht auf Degeneration oder Absterben zurückzuführen, denn wir konnten beweisen, daß es sich dabei um eine temporäre Erscheinung handelt, da nach einigen Generationen sich wieder so reiche Kulturen wie früher bilden. Ferner zeigten die morphologischen Besonderheiten der Spirochäten in den Kulturen, daß Spirochäten mit bestimmten morphologischen Merkmalen darin auch periodisch erscheinen, und zwar unabhängig von den Züchtungsbedingungen, so z. B. die verwickelten Spirochäten, die sternartigen Figuren und endlich die Einrollungsformen.

Bei der Züchtung der Spirochaeta Obermeieri nach unserer Methode zeigt sich also eine ganze Reihe von Erscheinungen, was wohl mit den biologischen Eigenschaften der Spirochäten selbst in Verbindung steht, und wahrscheinlich in direkter Beziehung zu der Entwicklungsgeschichte der Spirochäten steht. Deshalb schließen wir uns gern der Ansicht derjenigen Autoren an, die in dem periodischen Wechsel der Anfälle und der Ayprexie bei Typhus recurrens nicht nur die Abspiegelung eines Wankens im Immunitätszustande sehen, sondern glauben, daß dieser Wechsel der Spirochätengenerationen im Zusammenhang mit dem Entwicklungszyklus steht.

Erklärungen der Tafelabbildungen.

1. Präparatausstrich aus reifer Kultur, gefärbt nach Giemsa, mikroskopiert im Dunkelfeld. Objektiv Leitz Nr. 6. Ok. 4. Spirochäten mit unregelmäßigen Windungen und Spirochätenagglomeration. — 2. Präparatausstrich aus reifer Kultur, gefärbt nach Giemsa, mikroskopiert im Dunkelfeld. Objektiv und Ok. dieselben. Spirochäten mit regelmäßigen und unregelmäßigen Windungen. — 3. Präparatausstrich aus alter Kultur, gefärbt nach Giemsa, mikroskopiert im Dunkelfeld. Objektiv und Ok. dieselben. Spirochäten mit regelmäßigen und unregelmäßigen Windungen, verschiedener Länge und Degenerationsformen. — 4. Spirochäten in lebendem Zustand aus reifer Kultur im Dunkelfeld. Objektiv und Ok. dieselben. Spirochäten mit regelmäßigen und unregelmäßigen Windungen. Spirochätenagglomeration. — 5. Spirochäten aus 4 Tage alter Kultur auf Nährboden mit Blutgerinnsel. Die Kultur besteht fast ausnahmslos aus kleinsten Formen. Dabei kommen auch Degenerationsformen mit Ringen vor. — 6. Spirochäten mit unregelmäßigen Windungen aus alter Kultur in verschiedenen Momenten der Bewegung. a, b und c allmähliche Bildung der Einrollungsformen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Amöben.

[Aus dem Hygienischen und Bakteriologischen Institut zu Jena (Direktor: Prof. Dr. Abel).]

Erster Teil.

Von Dr. med. **Z. Nesmelow,**
Privatdozentin am Medizinischen Institut zu Charkow (Ukraine).

Obgleich die Literatur über die Amöbenfrage in den letzten Jahrzehnten und besonders nach dem Kriege sehr reich geworden ist, besitzen wir doch bis jetzt keine sicheren Kenntnisse über die morphologischen und biologischen Eigenschaften von vielen dieser Protozoen. Das pathogene Material ist auf diesem Gebiete nicht leicht und überall zu haben, und die Versuche damit stoßen auf manche technischen Schwierigkeiten. Die Untersuchungen über die apathogenen Amöben vom medizinischen Standpunkte aus sind nicht zahlreich. Mit den apathogenen Amöben beschäftigen sich meistenteils nur Zoologen, die sich der Protistenkunde gewidmet haben. Eigentlich müßten aber auch die Mediziner diesem Gegenstande mehr Anteil schenken, da man bei solchem Studium Gesichtspunkte bekommt, die zur Aufklärung der Biologie der pathogenen Amöben wertvolle Hinweise geben können.

Ich bin daher der Anregung des Herrn Prof. Dr. Abel, einen Aufenthalt in seinem Institute zu Untersuchungen über medizinisch wichtige Verhältnisse banaler, nicht-pathogener Amöben zu benutzen, gern gefolgt und berichte im folgenden über meine ersten Ergebnisse; eine Fortsetzung meiner Studien behalte ich mir vor.

Als Material für meine Versuche benutzte ich vor allem einige Amöbenkulturen, die von Prof. Dr. Abel schon vor längerer Zeit aus verschiedenen Materialien herangezüchtet waren (4 Stämme). Außerdem hatte ich zur Verfügung noch Stämme, die ich selbst aus dem Stallmist und aus dem Darmschleim von Meerschweinchen und Kaninchen bekommen habe. Ueber ihre morphologischen Eigentümlichkeiten ist in aller Kürze folgendes zu sagen:

Alle Protozoen, die als Versuchsmaterial gedient haben, gehörten nach der Klassifikation von Doflein zur Ordnung Amoebina, zur Familie Amoebidae und zur Gattung Limax. In keinen äußerlichen Verhältnissen bildeten sie Geißeln. Ueber die einzelnen Stämme ist folgendes zu sagen:

Nr. 1, bezeichnet 4 AB, gezüchtet aus Erfurter Kläranlagenschlamm 1922. Große Amöbe, gegen 100 μ, Zysten gegen 25 μ, Ekto- und Entoplasma, dünnflüssig, bildet breite Pseudopodien, Ektoplasmaschicht ziemlich breit. Der Kern etwas oval, Binnenkern deutlich. In der Norm eine große kontraktile Vakuole und 2—3 kleinere. Im abgekugelten oder enzystierten Zustande vielkernig. Bewegungen sehr lebhaft. Wachstum auf Bakterienrasen profus und rasch.

Nr. 2, bezeichnet Trichter, aus derselben Quelle wie Nr. 1, 1/2 Jahr später herangezüchtet (1922). Der 4 AB sehr ähnlich, doch etwas kleiner. Wachstum auf entsprechenden Nährböden etwas langsamer.

Nr. 3, bezeichnet Greiz. Aus einem Wasser aus der Stadt Greiz (1922). Mittelgroße Amöbe, gegen 50 μ. Protoplasma scheint weniger flüssig. Schicht von Ektoplasma schmäler als bei Nr. 1. Wachstum üppig, doch etwas langsamer. Weniger lebhaft in ihren Bewegungen.

Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nr. 4, bezeichnet I, 1922, gezüchtet aus Material wie Nr. 1. Kleine Amöbe, gegen 30 μ; Zysten gegen 10 μ. Wachstum auf künstlichen Böden verhältnismäßig langsam. Pseudopodien breit, Bewegungen ziemlich lebhaft, einkernig.

Nr. 5, bezeichnet Stallamöbe, aus dem Stallmist, April 1923 gezüchtet. Große Amöbe, gegen 80 μ; Pseudopodien oft fächerartig, Protoplasma etwas zäher als bei Nr. 1. Schicht von Ektoplasma ziemlich breit, der Kern deutlich, liegt gewöhnlich etwas exzentrisch, Wachstum auf Nährböden bedeutend langsamer als Nr. 1. In abgekugelten Formen vielkernig.

Nr. 6, bezeichnet 4-Darmamöbe. Aus dem Darmschleim von einem Meerschweinchen, April 1923 gezüchtet. Größe 60—80 μ. In den ersten zwei Generationen bildete die Amöbe Vorsprünge in verschiedenen Richtungen auf einmal, gab oft Himbeerformen und 1—2 sehr lange und dünne Pseudopodien (doch keine Geißeln). Kern deutlich, eine große kontraktile Vakuole und daneben 3—5 viel kleinere. Protoplasma dünnflüssig. Wachstum auf Nährböden ziemlich langsam. In abgekugelten Formen und Zysten vielkernig.

Zum Kultivieren der erwähnten Stämme erwiesen sich alle Nährböden passend, auf welchen Bakterien wachsen. Besonders dauerhafte und schön bewegliche Formen gewährte meistenteils die Gelatine. Beim Austrocknen bildeten sie schnell Zysten, die eine lange Lebensdauer besaßen. Alte Kulturen vom Juni—September 1922 gaben im Mai 1923, wo die meisten von ihnen auf Agar vollständig ausgetrocknet schienen, bei Ueberimpfung auf frischen Nährboden schon in 24 Std. überall ein positives Resultat.

Zur Verdrängung der gemischten Bakterienflora, in der man die Amöben bei der Züchtung zuerst erhält, durch eine bestimmte Bakterienart wurden Kulturen von verschiedenen Wasserbakterien, sowie von Typhus-, Coli-, Cholera-, Dysenterie-, Diphtheriebakterien lebendig oder abgetötet angewandt. Am besten wuchsen die Amöben auf Coli und Typhus, aber auch nicht schlecht auf Wasserbakterien. Pathogene Bakterien wurden also von den Amöben mit gleicher Bereitwilligkeit wie Saprophyten gefressen und ihre Toxine sind anscheinend für diese Protozoen unschädlich.

Was die Temperatur anbetrifft, so waren sie dagegen ziemlich gleichgültig und ertrugen den dauernden Aufenthalt im Brutschranke ebenso wie Zimmertemperatur.

Um Kulturen der Amöben mit nur einer Bakterienart zu erzielen, wurde meistenteils die Methode von Mouton angewandt, die auch v. Schuckmann empfiehlt. Es wird dabei auf einer Agar-, Heuagar-, Conradi-Drigalski-Platte u. dgl. m. die für die Züchtung bestimmte Bakterienart in radiären Ausstrichen ausgesät (am besten nur in 4 Strichen, also kreuzartig) und in die Mitte der Platte das Amöbenmaterial aufgebracht. Nach 24—48 Std. war gewöhnlich auf der Plattenmitte schon ein matter Hauch zu sehen, der sich allmählich in konzentrischen Wellen ausdehnte. Er zeigte die Vermehrung von Amöben an, die nun entlang den Kulturstrichen der ausgesäten Bakterien zur Peripherie hin vordrangen und dabei die Bakterien verzehrten, so daß deren Kulturstriche zuletzt wie ausradiert erschienen. An der Peripherie waren dann meist nur vegetative Formen, in der Mitte immer zahlreichere Zysten zu finden.

Um sich von dem Vorhandensein der Amöben zu überzeugen, genügte es, die Platten unter dem Mikroskop mit einer starken Trockenlinse ohne Deckglas zu untersuchen, wobei man die Formen der Amöben sowohl wie auch die Bakterien ganz deutlich auf dem Nährboden zu sehen bekam.

Es ist das ein Untersuchungsverfahren, das den Vorzug hat, das Material in situ studieren zu können und das die Herstellung von Ob-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jektträgerpräparaten ersparen kann. Herr Prof. Abel, der es mir empfahl, braucht es seit langer Zeit auch zur Untersuchung von Bakterienkolonien in Platten. Nur muß der Nährboden dazu dünn und durchsichtig, und die Kolonien dürfen nicht zu dick sein.

Das Beimischen von einigen Farbstoffen (Malachitgrün, Pyronin, Neutralrot, Lackmus, Karmin u. dgl. m.) in Lösung oder Körnchen zum Nährboden hat keine besonderen Vorteile gegeben: Die studierten Amöbenstämme färbten sich dabei sehr schwach und auch nicht immer, verzehrten die farbigen Substanzen ungern und gaben sie sehr schnell wieder ab.

Bei dem Verfahren nach Mouton wachsen die Amöben in Bakterienreinkulturen hinein und lassen sich so, befreit von den Bakterien, von denen sie sich anfangs nährten, mit einer bestimmten Art von Bakterien zusammen vom Rande her weiter verimpfen. Es gelingt mit 1—3maliger Benutzung einer Platte nach Mouton in der Tat, Kulturen der Amöben mit nur einer Bakterienart zu gewinnen.

Ein anderes Verfahren, das die Trennung der Amöben von den sie begleitenden Bakterien und die Züchtung mit einer bestimmten Bakterienart zusammen ermöglichen soll, ist von Frosch 1897 angegeben worden.

Frosch hat aus verschiedenen Bakteriengemischen Amöben isolieren können, indem er ältere, zystenhaltige Amöbenkulturen mit einer 20-proz. Lösung von wasserfreier Soda übergoß. Nach 72 Std. waren nur noch die Zysten lebendig; bei Ueberimpfung auf eine Bakterienreinkultur erhielt Frosch dann eine Kultur der Amöben nur mit dieser Bakterienart zusammen.

Meine Versuche in dieser Richtung haben andere Resultate gegeben. Ich benutzte für diese 4 Amöbenstämme: 4 AB, Trichter, Greiz und I sowohl in alten (von 1922) wie auch in ganz frischen (4-tägigen) Kulturen in Röhrchen und auf Platten. Das Material wurde mit Sodalösung übergossen, die bei 20 Proz. Soda so stark war, daß die Kristalle sogar im Brutschranke nicht ganz aufgelöst waren und in dem Kolben sichtbares Sediment bildeten. Die Aufschwemmungen von Kulturen in Soda wurden für 72, 80—120 Std. stehen gelassen, darauf mikroskopiert und auf frische Nährböden (meist auf abgetötetem Coli- und Typhusrasen) übergeimpft. In einer anderen Reihe von Versuchen wurde die Sodalösung vorsichtig vom Sediment abgegossen, dem letzteren physiologische Kochsalzlösung oder destilliertes Wasser zugefügt und noch weiter bis zu 24 Std. stehen gelassen. Erst nach dieser Frist wurde das Sediment übergesät.

Die Ergebnisse von allen diesen Versuchen (über 40) sind beinahe gleich: In allen Fällen, wo sporenhaltige Bakterien den Amöben beigemischt waren, oder Fluorescens-Bazillen, was so oft bei den aus Wasser, Boden und Mist gezüchteten Amöben der Fall ist, konnte man mit Sodalösung die Amöbenzysten nicht rein bekommen; entweder waren sie auch zugrunde gegangen, oder aber es gediehen an ihrer Seite auch Sporenbildner und Fluorescens-Stäbchen. Dabei konnte man bemerken, daß manchmal Zysten (ebenso wie Sporen) später schöne Kulturen geben konnten, nachdem sie über 3 Tage im Sediment innig mit Sodakristallen gemischt bei Zimmertemperatur gestanden hatten.

Wie man aus diesen Versuchen sieht, sind einige Bakterienarten ebenso widerstandsfähig (was Sodalösung anbetrifft) wie die Amöbenzysten; diese Methode scheint also nur da anwendbar zu sein, wo zu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fälligerweise weniger resistente Bakterien oder vielleicht dauerhaftere Zysten vorhanden sind.

Ich stellte weiterhin Proben mit Antiforminlösungen an, die ja bekanntermaßen nichtsäurefeste Bakterien schnell abtöten. Dazu verwandte ich 3 Amöbenstämme, 4 AB, Trichter und Greiz, die ich in 10—15—20-proz. Antiforminlösungen 10—25 Std. bei Zimmertemperatur stehen ließ, worauf ich das Sediment mikroskopierte und auf verschiedene Bakterienrasenböden überimpfte. Die Ergebnisse dieser 2. Versuchsreihe sind der 1. eigentlich gleichdeutig: sporenhaltige Arten und chemisch resistente Bakterien werden auf diese Weise nicht verdrängt, ohne daß die Amöbenzysten auch geschädigt werden.

Die Nachprüfung der von Amster angegebenen Methode der Amöbenisolierung mit Anwendung von einem Kataphoreseapparat konnte ich leider nicht machen, da mir die nötige Apparatur nicht zugänglich war.

Viel mehr Schwierigkeiten als bei der Züchtung von Amöben mit einer bestimmten Bakterienart findet man dann, wenn man die Gewißheit haben will, daß die gezüchteten Amöben auch tatsächlich nur einer Art angehören. Man kann sich Sicherheit dann nach meinen verschiedentlichen Versuchen nur in der Weise verschaffen, daß man das Einzellverfahren anwendet.

Man könnte eigentlich denken, daß gerade für die Amöben, die im Vergleich mit Bakterien so groß sind, die Anwendung der Einzellmethode besonders leicht wäre. In der Praxis aber ist es anders. Vor allem scheinen die Tiere an dem Objektträger ziemlich fest zu haften, und die Flüssigkeit, die in die Kapillare strömt, läßt sie oft unbeweglich am Boden liegen oder aber hebt sie sie nicht bis zur Oeffnung der Kapillare empor. Das Ankleben der Amöben an ein zugeschmolzenes, abgestumpftes Kapillarröhrchenende (Arndt) konnte ich nicht erzielen. Das Tier weicht gewöhnlich dem Instrument aus und wird dann nicht aufgefangen.

Ich habe schließlich mit vieler Uebung und Geduld durch Abfischen mit der Kapillare noch die besten Ergebnisse erzielt. Die aufgefangene Amöbe wurde dann zunächst in einem Agartröpfchen auf dem Deckgläschen gezüchtet (Mikrokultur Walker) und dann wurden von da aus weitere Kulturen angelegt. Zweckmäßig müssen für die Mikrokultur auch Bakterien mit in das Agartröpfchen gebracht werden, doch ist das nicht immer unbedingt nötig, weil an den Amöben Bakterien haften, sich in dem Nährbodentröpfchen noch früher als die übertragenen Amöben vermehren und ihnen zur Nahrung dienen.

Zum Studium der morphologischen und biologischen Eigenschaften der Amöben wurden größtenteils Präparate zwischen Deckgläschen und Objektträger, mit Vaseline umrandet, oder hängende Tropfen aus frischem, ungefärbtem Material angewandt, die stunden- und tagelang mikroskopiert wurden.

Wenn man z. B. ein Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung mit 4 AB-Amöbe auf Wasserbakterien systematisch tagelang beobachtete, konnte man folgendes bemerken: In den ersten 5—6 Tagen zeigten die lebendigen vegetativen Formen keine besonderen Abweichungen von der Norm; ein Teil der vorhandenen Tiere enzystierte sich allmählich in dieser Periode; andere Amöben bewahrten ihre Form, Größe und den Typus von Pseudopodien, obgleich ihre Bewegungen im ganzen allmählich träger schienen. Von dem 7.—8. Tage an waren gewöhnlich schon sehr viele Zysten zu sehen, und die vegetativen Formen wurden

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

viel kleiner an Wuchs, wobei dieser Umfangsverlust hauptsächlich dem Ektoplasma galt. Der ganze Zellkörper bekam eine reiche, mehr oder weniger gröbere und stark lichtbrechende Körnelung. Aber die Beweglichkeit von einzelnen Amöben, obwohl sie schon klein und granuliert erschienen, war noch am 11. Tage nachweisbar.

Zwischen den Gruppen von zahlreichen Zysten konnte man vom 7.—9. Tage an das Auftreten von Streifen und Klumpen bemerken, die aus getrennten oder zusammenfließenden Körnchen bestanden. In einigen Präparaten war deutlich zu sehen, daß diese Klümpchen an der Stelle von Amöben entstanden, die hier vorher lagen und nach und nach ihre Zellkonturen verloren, wobei das Ektoplasma zuletzt ganz durchsichtig wurde und seine Umrisse verlor. Als Uebergangsform zur Zyste (?) konnte man auch große, kugelartige Zellen sehen mit deutlichen Vakuolen, Kern und Kernchen, wobei oft die Hauptvakuole den größten Teil der Zelle bildete.

Am Ende der 2. Woche des Versuches blieben gewöhnlich im Präparate nur Zysten und die oben erwähnten körneligen Bildungen. Die Ueberimpfung (nach 15—20 Tagen) des Tropfeninhaltes auf frischen Nährboden gab in der Regel nach 24 Std. eine üppige Amöbenkultur.

Um das Wesen der Klümpchen näher kennen zu lernen, versuchte ich, nach dem Einzellverfahren auch Mikrokulturen aus diesen einzelnen Klümpchen zu bekommen. 2mal ist es mir gelungen, diese Bildungen aufzufangen und auf Coli-Aussaat zu übertragen, indem ich, soweit ich mit der starken Vergrößerung es verfolgen konnte, keine anderen Elemente aus der Flüssigkeit mitgeschleppt hatte. Diese Impfungen gaben ein positives Resultat. Vielleicht wäre es möglich, daß hier noch lebensfähige Teile der Amöben trotz der Degenerationsvorgänge vorhanden waren.

Besonders wichtig schienen mir Versuche über das Verhalten meiner Amöben gegenüber Körpersäften des Warmblüters und im tierischen Körper überhaupt.

Eine 1. Versuchsreihe nach dieser Richtung sollte die Einwirkung von menschlichem Serum auf die Amöben in vitro studieren. Es wurden dazu Serumproben von der Wassermann-Station verwandt und in Tröpfchen Serums die Amöben aus Kulturen übertragen. Die Tropfen wurden bei Zimmertemperatur gelassen und wiederum stunden- und tagelang untersucht.

Unmittelbar nach dem Einbringen von Amöben in den Serumtropfen (zwischen + oder — Wassermann-Seren ist kein deutlicher Unterschied vorhanden) merkt man ein Zusammenkleben der Amöben untereinander und mit Zysten, wenn solche im Präparate sind; aber schon nach 2—3 Std. wird diese Erscheinung schwächer, man sieht wieder mehr einzelne Exemplare, und die Beweglichkeit wird deutlicher. Nach 5 bis 6 Std. werden die Bewegungen dann wieder schlaffer und beschränkter, verschwinden aber nicht, so daß man noch nach 5 Tagen einige Tiere kriechen sieht. Nach 3 Tagen war in den meisten Amöben eine glänzende Körnelung zu sehen, auch die Zysten kamen mir mehr „granuliert" vor; dabei wurde die Zahl von großen ruhenden Kugelformen (s. oben) bedeutend höher. Das Ektoplasma wurde immer durchsichtiger; in einzelnen Zellen war der Uebergang zu den Klümpchen (s. oben) recht schön ausgeprägt. Der größte Teil von vegetativen Formen scheint in diese Klümpchen überzugehen, andere enzystieren sich. Die Vakuolen wurden vom 1. Tage an bedeutend größer und zahlreicher in einzelnen Zellen. Ihre rosige

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Farbe gewann auch an Intensität. Manchmal bekamen sie eine ovale oder unregelmäßige Form und flossen zur Peripherie und manchmal in die Pseudopodien hinein. Nach 7 Tagen der Untersuchung konnte man wieder eine Andeutung von Neigung zum Zusammenkleben in einigen hängenden Tropfen nachweisen. Nach 18 Tagen Beobachtung bei Zimmertemperatur, wo nur noch Zysten und Klümpchen da waren, wurden die Tröpfchen auf Agarröhrchen übergeimpft und in allen Versuchen dann zahlreiche vegetative Formen und spärliche Zysten nach 24 Std. gefunden.

Da hier die verhältnismäßig schwache Wirkung der Menschensera auf Amöben vielleicht durch die niedrige Temperatur (10—12° im Zimmer) zu erklären war, wurden in einer 2. Versuchsreihe dieselben Sera mit gleichen Amöben beimpft und im Brutschranke gehalten. Nach 24 Std. konnte man in keinem Röhrchen vegetative Formen nachweisen und nur spärliche, durchsichtiger gewordene Zysten auffinden. Die Uebertragung des Sedimentes nach 48 Std. auf einen frischen Boden ergab jedoch am nächsten Tage die Anwesenheit von lebhaften, normal aussehenden Amöben.

Etwas andere Erscheinungen ergaben sich, als Amöbenstämme, die schon einmal durch menschliches Serum passiert waren, zum 2. Mal mit solchem Serum in Berührung gebracht wurden, und ebenso, als ein Stamm einer Darmamöbe aus dem Meerschweinchen in menschliches Serum übertragen wurde.

Die Bewegungen der einzelnen Amöben wurden vom ersten Augenblicke an deutlich schwächer, und in den ersten Stunden war schon die Körnelung vorhanden. Das Zusammenkleben war stärker und dauerte länger. Die Zahl der sich enzystierenden Tiere schien nach 4 Std. gewachsen zu sein, auch wurden die Zysten von Anfang an mehr durchsichtig und homogen als gewöhnlich. In einzelnen Zellen traten Vakuolen als riesig große Bildungen hervor, oft erschien der Rest der Zelle nur als ein schmaler Streifen um dieselben. Die Anhäufungen von Klümpchen waren auch schon in den ersten Stunden zu sehen, und in manchen Zellen wurde bald das Ektoplasma zu einem glasartigen Bändchen mit unregelmäßigen Konturen. Vielfach lagen Amöben auf den Zysten in Form eines Halbmondes oder Fortsetzung derselben. Nach 5 Std. waren die noch amöbenförmig aussehenden Zellen sehr klein geworden.

Wenn dieselben Sera mit den gleichen Amöben versetzt 24—48 Std. im Brutschrank gehalten wurden, fanden sich nur homogene einzelne Zysten; die Aussaat des Sedimentes aber auf Agar ergab nach 24 Std. reichliche vegetative, morphologisch normale, wenn auch etwas kleinere Amöbenformen. Die Kulturen der Amöben 4 AB und Stall, die also 2mal unter der Wirkung der menschlichen Sera gestanden hatten, lieferten darauf bis jetzt 3 Generationen und sind ihren morphologischen Eigenschaften nach gar nicht von ihrer Urkultur zu unterscheiden.

Faßt man diese Seraversuche zusammen, so muß man annehmen, daß Menschensera auf unsere nicht an den Tierkörper gewöhnten Amöbenstämme, falls überhaupt eine Wirkung, so doch nur eine schwache ausüben. Wenn auch in diesem Medium die Erscheinungen des Zerfalles und Enzystierens etwas schneller verlaufen als in der physiologischen Kochsalzlösung, so kann man doch nicht von ausgeprägten agglutinierenden, präzipitierenden, lytischen, amöboziden Eigenschaften des Serums sprechen, weder bei Zimmer- noch bei Körpertemperatur. Wo, wie geschildert, stärkere Einwirkungen sich zu zeigen schienen, wären

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sie vielleicht dadurch zu deuten, daß besondere Stämme von Amöben vorlagen: 4 AB und Stallamöbe, die schon einmal eine Serumpassage durchgemacht hatten, und eine Darmamöbe — möglicherweise in dem Tierkörper abgeschwächt, aus dem sie gezüchtet war. Aber auch in diesen Fällen war die Wirkung der Sera nicht auffallend stark, und die Ueberimpfung erwies recht lebensfähige Amöbenzysten. Es bleibt noch hinzuzufügen, daß beim Vorhandensein von Leukozyten in den Seris keine Spur von aktiver oder passiver Phagozytose bei der Amöbe nachzuweisen war.

Eine fernere Reihe von Versuchen hatte zum Ziel, das Verhalten der Amöben im lebenden Tierkörper und dessen Reaktion gegenüber den Amöben zu studieren. Zu diesem Zwecke wurden Amöbenkulturen mit bestimmten Bakterien gezüchtet, in die Bauchhöhle von Meerschweinchen und in die Blutbahn oder Subcutis von Kaninchen eingespritzt. Bei den Meerschweinchen wurden nach dem Pfeiffer-Issaeffschen Verfahren mittels Glaskapillaren von Zeit zu Zeit Proben des Bauchhöhleninhaltes entnommen, mikroskopisch und in Kulturen untersucht. Durch Wiederholung der Injektion sollte eine Immunisierung der Tiere sowohl gegen die benutzten Amöben wie Bakterien herbeigeführt werden, wobei zugleich die Möglichkeit einer Prüfung sich bot, ob der Bauchhöhleninhalt bei wiederholten Injektionen, mit zunehmender Immunisierung des Tieres also, stärkere Einwirkung auf die Amöben erkennen ließe. Bei den Meerschweinchen sowohl wie bei den Kaninchen sollte außerdem noch nach Ausführung mehrerer Injektionen mit steigenden Dosen die Wirkung des Blutserums hinsichtlich etwaiger Amöbolyse, Agglutination, Komplementbindung und Phagozytose gegenüber den zur Vorbehandlung benutzten und anderen Amöbenstämmen geprüft werden — Verhältnisse, über die von Coca, besonders aber seitens v. Schuckmanns bereits Untersuchungen vorliegen.

Die ersten an Meerschweinchen gemachten Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß den Tieren Aufschwemmungen von Amöbenkulturen auf Platten in physiol. Kochsalzlösung in die Bauchhöhle eingespritzt wurden. Nach einer Zwischenzeit von 5—7 Tagen wurden die Injektionen mit erhöhten Dosen wiederholt. Die beiden ersten so behandelten Tiere gingen im Anschluß an eine Injektion aus vollstem Wohlsein plötzlich zugrunde. Daher wurde bei 2 weiteren Tieren die Vorsicht gebraucht, zunächst eine Injektion mit den Bakterien, mit denen die Amöben zusammen wuchsen, vorauszuschicken, um, falls diese Bakterien irgendwie pathogen wirken könnten (es waren im übrigen harmlose Wasserbakterien), das Tier zunächst gegen sie zu immunisieren. Aber auch diese Tiere starben nach einigen Injektionen. Bei der Sektion fand sich nur in einem Tiere ein zähes, eitriges Exsudat in der Bauchhöhle mit dicken Belägen auf den Bauchorganen. Bei einem 2. Tiere war der flüssige Inhalt der Bauchhöhle eigentlich nicht vermehrt, aber leicht hämorrhagisch. Bei den beiden letzten Tieren war die Bauchhöhle bis auf leichte schleimige Beläge auf der Leber und der Milz ganz normal. Verletzungen in den Bauchorganen wurden nicht nachgewiesen, auch keine Schwellung der Lymphdrüsen, dagegen Stauungserscheinungen in den Organen der Bauchhöhle.

Bei 3 der 4 Tiere wurden Amöben nicht nur aus dem Exsudat herausgezüchtet, sondern auch aus den Geweben der Organe in der Bauchhöhle, und zwar je 2mal aus der Leber und Milz und 1mal aus der linken Nebenniere. Selbstverständlich war vorher die Oberfläche

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieser Organe gründlich verschorft worden, um sicher zu sein, daß nicht etwa mit dem Organgewebe auch Bauchhöhleninhalt zur Aussaat gelangte. Bei dem 4. Tiere wurde weder aus dem Bauchhöhleninhalt noch aus den Organen eine Amöbenkultur gewonnen.

Nach dem Tode der Tiere wurde von 2 der Meerschweinchen noch Blut aus dem Herzen genommen, das Serum daraus gewonnen und der Komplementbindungsversuch mit ihm gegenüber dem zur Impfung verwendeten Amöbenstamme ausgeführt. In einem dieser Fälle fand sich keine Spur von Komplementbindung, im anderen eine geringe Andeutung, so daß also nach dieser Richtung hin Ergebnisse nicht erzielt wurden.

Nach jeder Injektion in die Bauchhöhle der Meerschweinchen wurden sofort und dann in Abständen von 15 Min. und später stundenweise Proben des Bauchhöhleninhalts mit der Kapillare herausgeholt und im hängenden Tropfen untersucht. Diese Versuche ergaben, daß im Laufe der Stunden nach der Injektion die Amöben spärlicher und weniger beweglich wurden. Wenn allmählich die Leukozytose in der Bauchhöhle zunahm, war es nicht immer leicht, die sich abkugelnden Amöben von den Leukozyten und Endothelien zu unterscheiden. Die Ergebnisse waren die gleichen, unabhängig davon, ob die Untersuchungen nach der 1. oder nach einer späteren Injektion vorgenommen wurden. Weder Agglutination noch Amöbozidie noch Phagozytose waren mit Sicherheit nachzuweisen, so daß also auch in dieser Hinsicht kein positiver Erfolg durch die Injektion herbeizuführen war.

Von den Versuchskaninchen starben die beiden ersten, die je einen mit Coli-Bakterien zusammen gezüchteten Amöbenstamm (4 AB und Stallamöbe) in Aufschwemmung intravenös in eine Ohrvene erhalten hatten, nach etwa 16—24 Std. Die Sektion ergab neben einer alten Coccidiose nur Stauungserscheinungen in den inneren Organen. Interessant war es, daß es bei diesen Tieren gelang, aus der Milz und Leber die Amöben zu züchten. Es geht daraus hervor, daß die sicher nicht pathogenen Amöbenarten mindestens für eine längere Reihe von Stunden sich im Kreislauf oder den inneren Organen des Kaninchens haben lebendig erhalten können. Ob sie in vegetativer oder in Zystenform überlebt haben, läßt sich nicht entscheiden, weil die zur Injektion verwendete Kultur die Amöben in beiden Formen enthalten hatte. Im Herzblute konnten keine Amöben und deren Zysten nachgewiesen werden.

2 weitere Kaninchen wurden zunächst mit harmlosen Wasserbakterien intravenös geimpft und erhielten sodann in Zwischenräumen von 6—7 Tagen subkutan eine Aufschwemmung je einer mit denselben Wasserbakterien gezüchteten Amöbenart (Amöbe 4 AB und Stallamöbe). Einige Tage nach der 3. Amöbeninjektion wurde einem Tiere Blut entzogen und im Komplementbindungsversuch geprüft.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis der Komplementbindungsversuche mit dem Serum von Kaninchen 3 (Tab. I, S. 190).

Es zeigt sich in diesem Versuche, daß das Serum des Tieres komplementbindende Wirkung nur in Berührung mit demjenigen Amöbenstamm ergibt, der zur Vorbehandlung des Tieres gedient hat, während es anderen Amöbenstämmen gegenüber sich unwirksam erweist. Um jede Mitwirkung von Bakterien auszuschalten, die ja bei der Vorbehandlung mit den Amöben zusammen eingespritzt werden mußten, wurden, wie der Versuch zeigt, zu den Prüfungen auf Komplementbindungsvermögen die Amöben mit anderen Bakterien zusammen gezüchtet, als sie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Nr. der Röhrchen	Serumart	Dosis	Komplement	Antigen (0,2)	Ergebnisse des Versuches
1	3-Kaninch.-„Stallam.-Serum	0,05	0,1	Stallam. + Coli	++++
2	dgl.	0,03	„	dgl.	++++
3	„	0,01	„	„	++++
4	„	0,05	„	—	—
5	„	0,05	„	Colibact.	—
6	„	0,05	„	2 Darmam. + Coli	—
7	„	0,03	„	dgl.	—
8	„	0,01	„	„	—
9	Kaninchen-Normalserum	0,05	„	Stallam. + Coli	—
10	dgl.	0,05	„	4 Darmam. + Coli	—
11	Menschen-Normalserum	0,05	„	Stallam. + Coli	—
12	dgl.	0,05	„	4 Darmam. + Coli	—

zu den Injektionen verwandt worden waren (hier Coli, dort Wasserbakterien). Damit sind also die Ergebnisse nur auf die Einwirkung der Amöben selbst zu beziehen (Tab. II).

Tabelle II.

Nr. der Röhrchen	Serumart	Dosis	Komplement	Antigen (0,2)	Ergebnisse des Versuches
1	4 Kaninch. 4 AB Am.-Ser.	0,05	0,1	4 AB Am + Coli	++++
2	dgl.	0,03	„	dgl.	++++
3	„	0,01	„	„	++++
4	„	0,05	„	—	—
5	„	0,05	„	Colibact.	—
6	„	0,05	„	4 Darmam. + Coli	+++
7	„	0,05	„	Stallam. + Coli	++
8	Kaninchen-Normalserum	0,05	„	4 AB Am. + Coli	—
9	dgl.	0,05	„	Colibact.	—
10	Menschen-Normalserum	0,05	„	4 AB Am. + Coli	—
11	dgl.	0,05	„	Colibact.	—
12	—	—	„	„	—

Das Serum von Kaninchen 4 lieferte andere Ergebnisse trotz gleicher Technik, denn hier zeigte sich eine Hämolyse-hemmende Wirkung, also Komplementbindung, nicht bloß gegenüber demjenigen Amöbenstamme, der zur Vorbehandlung gedient hatte (4 AB), sondern auch gegenüber den beiden anderen, im Versuch benutzten Amöbenstämmen. Was die Beeinflussung der beiden nicht zur Immunisierung dienenden Amöben durch das Serum in diesem Falle anbelangt, so würde man nach den heute üblichen Auffassungen dazu neigen müssen, eine Verwandtschaft zwischen den 3 gleichartig reagierenden Amöbenarten anzunehmen. Es wird aber nötig sein, zur Klärung dieser Verhältnisse noch weitere Versuche auszuführen.

Als den beiden Kaninchen nach 8 Wochen noch einmal Blut entnommen wurde, ergab das Serum bis auf unwesentliche, kleine Differenzen dieselben Ergebnisse. Nach 8 Wochen war beim Kaninchen 3 die komplementbindende Wirkung stark gesunken, so daß nur noch bei Verwendung von 0,5 ccm Serum eine Hemmung der Hämolyse gegen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

über Stallamöbe + Bacterium coli in Stärke von ++ zu bemerken war. Bei Kaninchen 4 war die komplementbindende Kraft noch ungeschwächt nach 8 Wochen gegen Amöbe 4 AB, d. h. also die zur Impfung benutzte Amöbe + Coli, zeigte sich aber auch noch gegenüber der Darm- und der Stallamöbe + Coli, wenn auch in schwächerer Weise.

Eine Agglutination habe ich mit dem Serum der Kaninchen 3 und 4 nicht in überzeugender Weise beobachten können. Normales Kaninchenserum zeigte mikroskopisch im hängenden Tropfen dasselbe Bild, wie das Serum der immunisierten Tiere: die Amöben legen sich zusammen, sobald man sie in das Serum bringt; nach einiger Zeit kriechen sie wieder auseinander.

Auch lytische Wirkungen auf die Amöben ließen sich in dem Serum der immunisierten wie dem normalen Kaninchen nicht erkennen.

Die beschränkte Zeit meines Aufenthaltes in Jena zwang mich leider, meine Untersuchungen hiermit zunächst abzubrechen; ich beabsichtige sie aber später in meiner heimischen Arbeitsstätte fortzusetzen.

Erwähnen möchte ich nur noch, daß es mir gelang, wiederholt aus dem Darminhalt von Meerschweinchen und Kaninchen Amöbenstämme zu züchten, und zwar bei 5 von 12 Meerschweinchen und einem von 3 Kaninchen. Es wird besonders interessant sein, diese an das Leben im Tierkörper in gewisser Weise schon gewöhnten Stämme in ihrem Verhalten bei parenteraler Injektion zu studieren.

Literatur.

1) Amster, Centralbl. f. Bekt. Abt. I. Orig. Bd. 89. Beih. — 2) Arndt, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 25. — 3) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. — 4) Coca, Ztschr. f. Immunitätsf. T. I. Bd. 12. — 5) Frosch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 21. — 6) Mouton, Ann. l'Inst. Past. T. 16. 1902. — 7) v. Schuckmann, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 52. 1920.

Nachdruck verboten.

Ueber die Herkunft der X-Proteen und ihr Zusammenhang mit der Weil-Felixschen Reaktion.

[Aus dem Wissenschaftlichen Mikrobiologischen Institut in Moskau (Direktor: Prof. W. Barikin).]

Von Dr. **L. Silber,** Assistenten des Instituts.

Mit 1 Abbildung im Text.

In unserer Arbeit (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. H. 7/8) haben wir nachgewiesen, daß ein gewöhnlicher Proteus-Stamm (Bac. prot. vulg. Hauser), der während einer gewissen Zeit in einem Kollodiumsäckchen in der Bauchhöhle eines mit Flecktyphus infizierten Meerschweinchens gezüchtet war, die Fähigkeit erwirbt, durch Serum von Flecktyphuskranken sogar in starken Verdünnungen agglutiniert zu werden. Die Versuche wurden, wie folgt, angestellt: die Proteus-Bazillenemulsion wurde in einem Kollodiumsäckchen in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens eingeführt, das vor einigen Tagen mit Flecktyphus infiziert worden war. Nachdem die Temperatur des Versuchs-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tieres zu sinken begann, wurde das Säckchen herausgenommen, die Bazillenemulsion auf neutralen Agar ausgesät und die erhaltene Kultur mit verschiedenen Seris auf Agglutination geprüft. In allen Fällen, wo das Meerschweinchen an Flecktyphus erkrankte, und wo das Kollodiumsäckchen gut funktionierte, änderten sich die serologischen Eigenschaften des Proteus-Stammes vollständig. Aus einem durch Flecktyphusserum nicht agglutinierenden Stamme entstand jetzt ein hoch agglutinierender, jedoch blieben alle seine kulturellen Eigenschaften unverändert. Doch erwies sich diese serologische Modifikation als wenig stabil: schon nach 1—2—3 Wochen hatten wir wieder den Ausgangsstamm vor uns; die Fähigkeit, durch Flecktyphusserum agglutiniert zu werden, ging verloren. Wir hielten es für wahrscheinlich, daß die Zeitdauer, während welcher der Proteus-Stamm dem Einflusse des Flecktyphusvirus ausgesetzt war, für seine Agglutinabilität maßgebend sei. Unter dieser Voraussetzung wurde ein Proteus-Stamm, der schon einmal solch eine Kollodiumsäckchenpassage durchgemacht, jedoch seine Agglutinabilität bereits verloren hatte, einer 2. Passage (ebenfalls im Kollodiumsäckchen) unterworfen. Nach der 1. Passage, die im Februar 1922 durchgeführt wurde, wurde der Proteus gegen ein Flecktyphusserum geprüft, welches Proteus X19 1:1600 agglutinierte. Es zeigte sich, daß unser Stamm nur bei einer Verdünnung bis 1:400 agglutiniert wurde; nach 2 Wochen verlor er seine Agglutinabilität vollständig. Im März desselben Jahres wurde dieser Stamm zum 2. Male einer Passage unterworfen. Diesmal waren die serologischen Veränderungen des Stammes ausgeprägter und stabiler geworden. Von einem Flecktyphusserum vom Titer 1:1600 (gegen Proteus X19) wurde unser Stamm gleichfalls bis zur Verdünnung 1:1600 agglutiniert. Bis Ende Mai zeigten nach öfteren Ueberimpfungen wiederholte Prüfungen mit verschiedenen Flecktyphusseris keine Abnahme der Agglutinabilität. Das Serum eines Flecktyphuskranken, das mittels unseres Stammes erschöpft war, agglutinierte nun den Proteus X19 nicht mehr und umgekehrt konnte ein mit X19 erschöpftes Serum nicht mehr unseren Stamm agglutinieren.

Diese Ergebnisse schienen uns zu dem Schlusse zu berechtigen, daß es gelungen sei, auf rein experimentellem Wege einen Proteus vulgaris-Stamm in X19 überzuführen. Die bereits beinahe ein ganzes Jahr dauernde Beobachtung unseres 2mal passierten Stammes (wir nennen ihn Xv) hat gezeigt, daß wir Recht hatten.

Von Anfang Juni bis fast Ende Juli wurde der Stamm Xv nicht

Tabelle I.
Das Agglutinationsresultat durch Flecktyphussera im August 1922.

Verdünnung	Flecktyphusserum C			Flecktyphusserum D			Flecktyphusserum E		
	X19	Xv	Pr. vulg.	X19	Xv	Pr. vulg.	X19	Xv	Pr. vulg.
1:100	+++	+++	—	+++	+++	—	+++	+++	—
1:200	+++	+++	—	+++	+++	—	+++	+++	—
1:400	+++	+++	—	+++	++	—	+++	+++	—
1:800	+++	++	—	+++	±	—	+++	+++	—
1:1600	+++	++	—	+	—	—	+++	+++	—
1:3200	++	—	—	—	—	—	++	—[1]	—
1:6400	—	—	—	—	—	—	±	—	—
K.	—	—	—	—	—	—	—	—	—

1) Maximatiter 1:2000 +.

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

übersät und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Diese Bedingungen welche für das Auftreten gewisser Modifikationen, zuweilen auch serologischer (Baerthlein, Weil, Felix) günstig sind, beeinflußten gewissermaßen auch unseren Stamm. Wie aus Tab. I ersichtlich ist, büßte der Stamm Xv seine Agglutinabilität etwas ein und wurde jetzt vom Flecktyphusserum etwas schwächer agglutiniert, als der zum Vergleich dienende Stamm X19.

Im weiteren Verlaufe unserer Beobachtung wurde die Agglutinabilität des Stammes Xv fast jede Woche geprüft. Wir züchteten den Stamm in 2 Serien, deren eine wurde alle 2—3 Tage übergeimpft, die andere dagegen nur alle 2—3 Wochen. In keiner der beiden Serien konnten wir eine weitere Verminderung der Agglutinabilität bemerken, obwohl der oft übergeimpfte Stamm bereits über 100 Generationen durchgemacht hat. Der Stamm Xv wird zurzeit (Juni 1923) durch Flecktyphusserum ebenso stark agglutiniert, wie dies Tab. I anzeigt[1]).

Wir übergehen hier die Protokolle aller diesbezüglichen Versuche, da sie beinahe identisch mit den in Tab. I dargestellten sind. Es hat sonst unser Stamm Xv, der 2mal durch an Flecktyphus kranke Meerschweinchen passiert hat, während eines ganzen Jahres die Fähigkeit behalten, von Flecktyphusserum agglutiniert zu werden. Diese Fähigkeit ist bei unserem Stamme nur etwas schwächer, als bei dem zu unserer Verfügung stehenden Stamme X19. Bekanntlich variiert die Agglutinabilität verschiedener X19-Stämme nicht unbedeutend (Zechnovizer), und es ist daher leicht möglich, daß gewisse X19-Stämme unseren Stamm Xv an Agglutinabilität nicht übertreffen, ja sogar noch hinter ihm stehen.

Zur Untersuchung der antigenen Eigenschaften des Stammes Xv haben wir mehrere Kaninchen mit den Stämmen X19, Xv und Prot. vulg. immunisiert, und zwar mit lebendigen Kulturen, angefangen von $^1/_{100}$ einer Kultur; bei jeder nächsten Injektion wurde die Dosis verdoppelt. Es wurden 2 Methoden der Immunisierung versucht: Bei der

Tabelle 2.

Verdünnung	Serum Xv			Serum X19			Serum Prot. vulg.		
	Pr. vulg.	Xv	X19	Pr. vulg.	Xv	X19	Pr. vulg	Xv	X19
1:10	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++
1:25	+	+++	+++	—	+++	+++	+++	++	++
1:50	±	+++	+++	—	+++	+++	+++	++	++
1:100	—	+++	+++	—	+++	+++	+++	+	—
1:200	—	+++	+++	—	+++	+++	+++	—	—
1:400	—	+++	+++	—	++	++	+++	—	—
1:800	—	+++	+++	—	+	++	+++	—	—
1:1600	.	+++	+++	.	—	±	+++	.	.
1:3200	.	+++	++	.	—	—	+++	.	.
1:6400	.	++	+	.	—	—	+++	.	.
1:12 800	.	+	—	.	.	.	+++[2])	.	.
1:25 600	.	—	—	.	.	.	—	.	.
K.	—	—	—	—	—	—	—	—	—

1) Man kann nur eine Besonderheit der Agglutination dieses Stammes durch das Fleckfieberserum notieren: bei den stärksten Verdünnungen wurde manchmal eine völlige Senkung der Emulsion und eine Klärung der Flüssigkeit beobachtet. Bei Aufrührung eines solchen Röhrchens aber konnte man entweder keine Agglutination oder nur mittels einer Lupe sehr kleine Flocken sehen. Dasselbe beobachtete Ivaschinzew bei einer X19-Kultur.

2) Maximatiter 1:20000 +.

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

langsamen Methode machten wir 4 intravenöse Injektionen mit Intervallen von 5—10 Tagen (je nach Temperatur und Gewicht des Tieres); bei der schnellen Immunisierung wiederholten wir die Injektionen der Reihe nach[1]) 3 Tage. Es wurden nur intravenöse Injektionen angewandt, da bei subkutanen stets starke Nekrosen entstanden. Zur Immunisierung wurden vorzugsweise nicht albinotische, sondern dunkelbehaarte Kaninchen gewählt (Barikin und Sdrodowsky).

Die Prüfung der erhaltenen Immunsera ergab vorstehende Resultate (s. Tab. 2, S. 193).

Wie aus der obigen Tabelle ersichtlich, verhalten sich die Stämme X v und X 19 gegenüber allen Seren fast identisch. Man kann jedoch bemerken, daß Serum Prot. vulg. den Stamm X v etwas stärker agglutiniert, als den Stamm X 19. Damit steht in vollem Einklang, daß umgekehrt das Serum X v den Prot. vulg.-Stamm stärker agglutiniert, als das Serum X 19. Offenbar hat der Stamm X v mehr gemeinschaftliche antigene Gruppen mit dem Prot. vulg., als der Stamm X 19. Serum X 19 agglutiniert am stärksten den Stamm X 19 und Serum X v den Stamm X v.

Dieselben kleinen Unterschiede konnten auch beim Erschöpfungsversuche beobachtet werden.

Tabelle 3.

Verdünnung	Serum X 19, erschöpft durch den X 19		Serum X 19, erschöpft durch den X v		Serum X v, erschöpft durch den X v		Serum X v, erschöpft durch den X 19	
	X 19	X v	X 19	X v	X 19	X v	X 19	X v
1 : 10	—	—	+++	—	—	—	—	++
1 : 25	—	—	++	—	—	—	—	±
1 : 50	—	—	±	—	—	—	—	—
1 : 100	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 200	—	—	—	—	—	—	—	—
K.	—	—	—	—	—	—	—	—

Seratiter vor der Erschöpfung sind in Tab. 2 angeführt worden.

Wir sehen, daß die Bakterien des Stammes X 19 nicht alle Agglutinine aus dem Serum X v entziehen, ebenso verhalten sich die Bakterien X v gegen das Serum X 19. Diese kleinen serologischen Unterschiede scheinen in Widerspruch zu den Resultaten zu stehen, die im Erschöpfungsversuche, an der ersten Generation des Stammes X v im März 1922 angestellt war. Dort entzog der Stamm X v alle Agglutinine gegen X 19 und umgekehrt. Der Versuch wurde wiederholt, und zwar 2mal, im September 1922 und im Januar 1923:

Wir ersehen aus der Tabelle, daß in beiden Fällen das Resultat nicht mit dem im März erhaltenen übereinstimmt. Obgleich der Stamm X v das Flecktyphusserum bedeutend erschöpfte (von 1:3200 – 1:200), konnte er doch nicht alle darin enthaltene X 19-Agglutinine absorbieren. Es zeigte sich also auch hier eine gewisse Aenderung der serologischen Eigenschaften, die im Stamme X v während der 2monatlichen Aufbewahrung unter ungünstigen Bedingungen eingetreten ist. Jedenfalls

1) Wir geben entschieden der langsamen Methode den Vorzug; da die von Zechnowizer empfohlene schnelle oft den Tod der Versuchstiere verursacht und minderwertige Sera gibt.

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle 4.

	September 1922						Januar 1923					
	Flecktyphusserum C		Flecktyphusserum C, erschöpft durch den X 19		Flecktyphusserum C, erschöpft durch den X v		Flecktyphusserum N		Flecktyph.-serum N, erschöpft durch d. X 19		Flecktyphusserum N, erschöpft durch den X v	
Verdünnung.	X 19	X v	X 19	X v	X 19	X v	X 19	X v	X 19	X v	X 19	X v
1:10	.	.	—	—	+++	—	.	.	—	—	+++	—
1:25	.	.	—	—	++	—	.	.	—	—	++	—
1:50	.	.	—	—	++	—	.	.	—	—	++	—
1:100	+++	+++	—	—	++	—	+++	+++	—	—	++	—
1:200	+++	+++	—	—	+	—	+++	+++	—	—	±	—
1:400	+++	+++	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—	—
1:800	+++	++	.	.	—	.	+++	++	.	.	—	.
1:1600	+++	++	.	.	—	.	+++	++	.	.	—	.
1:3200	++	—	.	.	—	.	++	—	.	.	—	.
1:6400	—	—	.	.	—	.	—	—	.	.	—	.
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

zeigen die Resultate der Versuche im September und Januar ganz zweifellos, daß die serologischen Eigenschaften des Stammes X v stabil sind, wie dies übrigens auch aus allen übrigen Versuchen zu ersehen war. Die Tatsache, daß der Stamm X v in hohem Maße die Agglutinine gegen X 19 erschöpft, kann nur so gedeutet werden, daß diese beiden Stämme im Flecktyphusserum durch dieselben Agglutinine agglutiniert werden, und daß demnach der Stamm X v zum Typus X 19 gehört.

Um die serologische Untersuchung unseres Stammes durchzuführen, blieb uns nun noch übrig, seine O-Formen zu bekommen. Bekanntlich haben Weil und Felix solche aus alten Agarkulturen isoliert[1]). Wir haben in den letzten 2 Jahren oft versucht, solche O-Formen aus unseren Stämmen zu isolieren. Bei Ueberimpfung alter sowohl wie auch 24-stünd. Kulturen auf angetrocknetem Agar erhielten wir bisweilen Kulturen, welche einzeln liegende, nicht schwärmende Kolonien bildeten, aber meist schon bei der nächsten Ueberimpfung ein diffuses Wachstum zeigten; zuweilen blieb die Eigenschaft, isolierte Kolonien zu bilden, während einiger, doch nie mehr als 5–6 Generationen bestehen. Offenbar ist dies eine individuelle Eigenschaft, die bei verschiedenen Stämmen verschieden stark ausgeprägt ist.

Wegen dieser Mißerfolge wandten wir uns der von Braun und Schäffer[2]) vorgeschlagenen Methodik zu: Nach den Angaben dieser Autoren sind die Proteus-Kulturen, die auf Karbolagar (zu je 100 ccm gewöhnlichen Agars 2 ccm 5-proz. Karbolsäure) gezüchtet waren, vollständig mit den O-Formen von Weil und Felix identisch[3]). Die Literaturangaben charakterisieren die O-Formen der Proteus X-Stämme ganz übereinstimmend folgendermaßen: morphologisch sind es unbewegliche, isolierte Kolonien bildende Bakterien, serologisch bilden sie keine gemeinsamen antigenen Gruppen mit dem Prot. vulg. und den anderen

1) Uebrigens hat schon viel früher Metschnikoff solche Formen beim Proteus beobachtet.

2) Diese Autoren waren auch nicht imstande „natürliche" O-Formen zu erziehen.

3) Felix und Mitzenmacher bestreiten dies, doch kann man sich, wenn man ihre Arbeit und die Arbeiten von Braun und Salomon, Braun und Schaeffer, und Seifert zusammenstellt, überzeugen, daß mehrmals auf Karbolagar übergesäte Flecktyphus-Proteus-Stämme wirklich mit den O-Formen identisch sind.

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Typen der X-Proteen, zeichnen sich aber durch hohe Agglutinabilität aus. Es agglutiniert deshalb das Serum eines mit O-X 19 immunisierten Kaninchens nur X 19, nicht aber X 2 und Prot. vulg. Anderseits wird ein durch O-X 2 erzeugtes Infektionsserum nicht X 19 und Prot. vulg. agglutinieren. Diese Methode erlaubt daher eine scharfe und genaue Differenzierung verschiedener Typen der X-Proteen.

Wir benutzten unseren Stamm für weitere Versuche erst nach 10 Ueberimpfungen auf Karbolagar. Die Untersuchung im hängenden Tropfen zeigte, daß die Bakterien unbeweglich waren; sie wurden dann gegen Flecktyphusserum geprüft.

Tabelle 5.

	Flecktyphusserum C				Flecktyphusserum F			
Verdünnungen	Gewöhnl. X 19	Karbol. X 19	Gewöhnl. X v	Karbol. X v	Gewöhnl. X 19	Karbol. X 19	Gewöhnl. X v	Karbol. X v
1:100	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1:200	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1:400	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
1:800	+++	+++	++	+++	+++	+++	±	++
1:1600	+++	+++	++	+++	++	+++	—	+
1:3200	++	+++	—	+	—	+++	—	—
1:6400	—	+++	—	—	—	++	—	—
1:12 800	—	+	—	—	—	—	—	—
1:25 600	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—

Es steigern demnach sowohl X v wie auch X 19 beim Züchten auf Karbolagar ihre Agglutinabilität; beim X 19 ist diese Steigerung mehr ausgesprochen als bei X v.

Ein mit lebendiger Kultur des Karbol-X v-Stammes immunisiertes Kaninchen und das so erzeugte Infektionsserum wurden gegenüber verschiedenen Stämmen auf seine Agglutinationsvermögen geprüft. Die Resultate zeigt Tabelle 6:

Tabelle 6.

Verdünnungen	Gewöhnl. X v	Karbol. X v	Gewöhnl. X 19	Karbol. X 19	Gewöhnl. Prot. vulg.	Karbol. Prot. vulg.
1:10	.	.	.	.	—	±
1:25	.	.	.	.	—	—
1:50	.	.	.	.	—	—
1:100	+++	+++	+++	+++	—	—
1:200	+++	+++	+++	+++	—	—
1:400	+++	+++	+++	+++	.	.
1:800	+++	+++	++	+++	.	.
1:1600	++	+++	+	+++	.	.
1:3200	+	++	±	++	.	.
1:6400	—	++	—	++	.	.
1:10 000	—	+	—	++	.	.
1:12 800	—	—	—	+	.	.
1:25 600	—	—	—	—	.	.
K.	—	—	—	—	—	—

Man sieht, daß das Karbolstamm-X v-Serum nicht **mehr den Prot. vulg.** agglutiniert, wohl aber, und dazu in hohem Maße, den Stamm X 19.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dadurch ist die qualitative Identität der Stämme X 19 und X v bewiesen. Jedoch treten auch hier gewisse quantitative Unterschiede auf. Bemerkenswert ist, daß der Karbol X 19-Stamm stärker durch das Karbol-X v-Serum agglutiniert wird, als der zur Immunisierung benutzte Stamm, während das durch Injektionen von einem gewöhnlichen X v-Stamme gewonnene Infektionsserum den X v-Stamm stärker agglutiniert, als den X 19. Es hängt dies wahrscheinlich davon ab, daß, wie aus Tab. V ersichtlich ist, der Karbol-X 19-Stamm überhaupt leichter agglutiniert wird, als der Karbol X v-Stamm.

Damit hielten wir die serologische Untersuchung unseres Stammes für beendigt. Aus den angeführten Tabellen ist zu ersehen, daß wir mit vollem Rechte behaupten können, daß unser Stamm X v in serologischer Beziehung ein X 19-Stamm ist. Die sich fast in jeder Tabelle zwischen X v und X 19 zeigenden Unterschiede, die wir stets sorgfältig notierten, sind nicht größer als diejenigen, welche zwischen verschiedenen X 19-Stämmen vorkommen (Zechnowizer). Hätten wir unseren X v-Stamm nicht mit 1, sondern mit mehreren X 19-Stämmen verglichen, so könnten wir, aller Wahrscheinlichkeit nach, einen X 19-Stamm treffen, der sich ganz analog dem X v-Stamme verhält. All diese Unterschiede sind nur quantitativer, aber nicht qualitativer Art. Gewisse Veränderungen der Eigenschaften des X v-Stammes, die während seiner Aufbewahrung ohne Ueberimpfung stattgefunden haben, haben ihr Analogon in der bereits beschriebenen Verminderung der Agglutinabilität (Grütz u. a.), und sogar in dem Verschwinden, das zuweilen bei X 19, sogar unabhängig von ungünstigen (sauren) Nährböden, auftritt (Mühlens u. Stojanoff, Zechnowizer). Auch Weil hat gewisse serologische Modifikationen beschrieben, die in den X 19-Kulturen auftreten, wenn diese längere Zeit nicht übergesät werden.

Durch unsere Versuche wird ganz endgültig die Frage über die Herkunft der Flecktyphusproteen entschieden. Es ist somit auf experimentellem Wege die Vermutung verschiedener Autoren bestätigt worden, daß X 19-Proteen nichts anderes seien, als gewöhnliche Prot. vulg., die nach Verletzungen der Blutgefäße aus dem Darminhalt in die Blutbahn eingedrungen sind und hier, unter dem Einfluß des Flecktyphusvirus ihre serologischen Eigenschaften verändert haben.

Bevor wir zur theoretischen Erwägung der Resultate unserer Versuche übergehen, müssen wir noch zwei wichtige Fragen beantworten: 1) ob jeder Proteus vulgaris-Stamm in einen X 19 umgewandelt werden kann, und 2) woher die Proteen des X 2-Typus stammen.

Die Versuche, durch Züchtung auf Flecktyphusblut die serologischen Eigenschaften der Prot. vulg. zu verändern (Oettinger, Papamarku, Grütz) zeigten, daß eine solche Veränderung nicht bei jedem Stamme gelingt. So konnte Grütz aus 20 Stämmen nur bei 8 eine Agglutinabilität erzeugen, und auch von diesen 8 Stämmen erweisen nur 3 eine einigermaßen hohe Agglutinabilität; bei den übrigen 5 lag sie zwischen 1:40 und 1:100. Deswegen züchteten wir, bevor wir zu den Versuchen an Tieren übergingen, unseren Prot. vulg. auf Flecktyphusblut, um sicher zu sein, daß der Stamm überhaupt zu serologischen Aenderungen fähig ist.

Bekanntlich konnten alle Flecktyphusproteen Indol bilden und Maltose und Saccharose spalten. Dagegen kann man zwischen den Prot. vulg. Stämme treffen, die diese Fähigkeiten nicht besitzen (van Loghem, Schaeffer, Yotten, Wolf). Dies spricht auch dafür, daß

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

nicht jeder Prot. vulg.-Stamm in einen X 19 übergehen kann, denn bei einem solchen Uebergang ändern sich die kulturellen Eigenschaften nicht. Zum einwandfreien Beweise stellten wir noch 2 Versuche an, indem wir 2 Proteus-Stämme nahmen, von denen einer aus faulendem Fleisch isoliert war, der andere aus den Fäzes eines gesunden Menschen, und ließen sie, ganz analog wie im Hauptversuche, in Kollodiumsäckchen durch flecktyphuskranke Meerschweinchen passieren. Daß letztere wirklich am Flecktyphus erkranken, wurde nachträglich durch pathologisch-anatomische Untersuchung des Hirnes bestätigt, und die Durchlässigkeit der Kollodiumsäckchen mittels Methylenblau und Fuchsin kontrolliert. Obwohl die Meerschweinchen tatsächlich am Flecktyphus erkrankten und die Kollodiumsäckchen in genau derselben Weise funktionierten, wie im ersten Versuch, hatte der eine von den 2 passierten Prot. vulg.-Stämmen seine serologischen Eigenschaften gar nicht verändert und der 2. war zwar in der 1. Generation durch Flecktyphusserum vom Titer 1:6400 bei sehr geringen Verdünnungen (bis 1:50) agglutiniert, verlor aber auch diese äußerst geringe Agglutinabilität schon in der nächsten Generation.

Es wird also nicht jeder Prot. vulg.-Stamm durch den Einfluß des Flecktyphusvirus verändert. Das Schicksal eines in die Blutbahn von Flecktyphuskranken eingedrungenen Prot. vulg. hängt nicht nur von der Dauer seines Aufenthaltes dort und von der Stärke des Virus, sondern hauptsächlich von den individuellen Eigenschaften des Stammes selbst ab.

Die Ergebnisse unserer Experimente stehen in vollem Einklang damit, was man häufig unfehlbar am Krankenbette beobachten kann. Aus den Arbeiten Schürers und Wolffs sehen wir, daß nicht jeder Prot. vulg. in einen X 19 verwandelt werden kann; es haben nämlich diese Autoren aus dem Blute der Flecktyphuskranken gewöhnliche Prot. vulg. isoliert. Auch Gergely hat solche Proteen aus dem flecktyphuskranken Organismus isoliert. Schon in ihren ersten Arbeiten (Wien. klin. Wochenschr. 1917 u. 1918) geben Weil und Felix an, daß sie zuweilen bei Flecktyphuskranken solche Proteus-Stämme isolierten, die zwar zuerst durch das entsprechende Serum agglutiniert wurden, diese Eigenschaft aber bald verlieren. Solche Stämme gleichen also unseren Prot. vulg.-Stämmen, die wir 1mal durch die Flecktyphusmeerschweinchen passieren ließen. Es ist demnach für die Umwandlung der Prot. vulg. in X 19 die Stärke des Flecktyphusvirus und die Zeitdauer, während welcher das Virus auf die Bakterien eingewirkt hat, von großer Bedeutung, und dadurch wird auch einer der bisher dunklen Punkte der Weil-Felixschen Reaktion erklärt, nämlich die außerordentliche Seltenheit der Auffindung des X 19. Es kommen nämlich durchaus nicht immer die Prot. vulg. in die Blutbahn. Aber auch wenn dieses geschehen ist, können die eingedrungenen Proteen zu einem Stamme gehören, welcher nicht fähig ist, in X 19 überzugehen; und endlich, wenn der Stamm auch wirklich veränderungsfähig ist, so wird er doch nicht immer verändert. Die gleichzeitige Anwesenheit aller dieser zur Umwandlung notwendigen Bedingungen ist natürlich nur selten, deswegen auch die X 19 Proteen so selten aufgefunden[1]) werden.

1) Es sind von einigen Autoren (Dienes, Hamburger und Bauch, Finger und Kollert, Wolff) Fälle beschrieben worden, wo X 19 aus Material isoliert wurde, welches in keiner Beziehung zum Flecktyphus stand. Abgesehen davon, daß diese X 19-Proteen ungenügend serologisch untersucht wurden, ist es auch leicht möglich,

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Frage nach der Herkunft der X2-Proteen ist in letzterer Zeit durch die Arbeiten von Weil und Felix bedeutend geklärt worden. Weil hat nämlich gezeigt, daß es möglich ist, in einer X19-Kultur, die aus einer einzigen Bakterienzelle aufgewachsen ist, solche Kolonien aufzufinden, welche sich serologisch vom Augangsstamme unterscheiden, und die zu diesem Stamme genau in demselben Verhältnis stehen, wie X2 zu X19. Diese Ergebnisse wurden voll von Felix bestätigt. Es ist somit leicht möglich, daß X2 einen Varianten des X19-Typus darstellt. Solange es aber nicht gelungen ist, aus einem X19 einen Stamm zu bekommen, der dem X2 vollständig gleich ist, kann man die Frage nicht als gelöst betrachten. In unserer ersten Arbeit über das Wesen der Weil-Felixschen Reaktion haben wir noch auf eine andere Möglichkeit hingewiesen, nämlich daß ein Prot. vulg.-Stamm in einen X19 übergehen könne. Es würde dies in erster Linie von den serologischen Eigenschaften des ursprünglichen Stammes abhängen. Die Verschiedenheit dieser Eigenschaften ist bei den Prot. vulg. so groß, daß nicht nur ältere Autoren (Klieneberger, Berdnikoff, Gorowitz), sondern auch Forscher der letzten Jahre (z. B. Schaeffer) keine Grundlagen für eine serologische Systematik der Prot. vulg. geben können. Bei einer so großen serologischen Varietät ist es ganz verständlich, daß ein und daselbe Agens — das Flecktyphusvirus — den einen Prot. vulg. in X19 umwandelt und einen anderen in X2. Wir haben schon darauf aufmerksam gemacht, von wie großer Bedeutung die individuellen Eigenschaften eines Prot. vulg.-Stammes für die Möglichkeit, ihn in einen X19 zu verwandeln, sind. Aus all diesen Ueberlegungen ergibt sich, daß die Frage nach der Herkunft des X2 keine aktuelle und selbständige Bedeutung haben kann.

Zu welcher Art der Variabilität ist der Uebergang von Prot. vulg. in einen X19 zu rechnen? Bei dem jetzigen Stande der Lehre über die Variabilität der Bakterien, wo drei entgegengesetzte Theorien herrschen (Lehmann, Toennissen, van Loghem), ist es besser, diese Frage unbeantwortet zu lassen, und zwar um so mehr, als nach Schmitz die Agglutinabilität eine phänotypische Eigenschaft ist und somit keine große Bedeutung für die Genetik hat. Wir möchten hier jedoch auf 2 Momente aufmerksam machen: 1) daß wir es bei der Umwandlung des Prot. vulg. in X19 mit dem Auftreten einer sich vererbenden Eigenschaft zu tun haben, und 2) daß die Veränderung des Prot. vulg. nur in einer bestimmten Richtung vor sich geht, also einen gewissermaßen orthogenetischen Charakter aufweist. Letzteres ist daraus ersichtlich, daß alle Versuche, serologische Modifikationen des Prot. vulg. unter dem Einflusse eines anderen Virus außer dem Flecktyphus vollständig mißlungen sind. Wir kultivierten wochen- und monatelang die Prot. vulg. auf festen und flüssigen Nährböden zusammen mit Cholera- und Dysenteriebazillen, ließen sie in Kollodiumsäckchen in einer Cho-

---

daß die Autoren Stämme vor sich hatten, welche einst doch in einem flecktyphuskranken Organismus geweilt haben. Es ist nämlich die Eigenschaft durch Flecktyphusserum agglutiniert zu werden, gar nicht so labil, wie man gewöhnlich annimmt. Wir hatten X19 viele Male in physiologischer Kochsalzlösung durchgewaschen, durch Kaninchen passieren lassen und wochenlang auf faulem Fleisch gezüchtet, ohne daß der Stamm seine Agglutinabilität einbüßte. Sollte ein solcher in einen gesunden Organismus eindringen, so würde er das Auftreten eines X19 vortäuschen. Außerdem unterscheidet sich sogar ein X-Stamm, der die Eigenschaft, durch Flecktyphussera agglutiniert zu werden, verloren hatte, in serologischer Hinsicht von einem Prot. vulg. (Zechnowizer).

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

lera- resp. Dysenteriebouillonkultur wachsen usw., nie aber wurden die Proteen durch Cholera- und Dysenterieserum agglutiniert:

Zusammenfassend, kann man sagen: 1) Die Flecktyphusproteen (wenigstens X 19) sind nichts anderes, als durch Flecktyphus veränderte Proteus vulgaris. — 2) Die Individualität eines Prot. vulg.-Stammes, welcher dem Einflusse von Flecktyphusvirus ausgesetzt ist, ist von ausschlaggebender Bedeutung für den Charakter der entstehenden Veränderung; es hängt davon 1) überhaupt die Möglichkeit einer Veränderung ab und 2) (falls eine Veränderung möglich ist), ob ein X 19 oder X 2 entsteht. — 3) Von großer Bedeutung sind ferner: die Stärke des Virus, die Dauer seiner Einwirkung auf den Prot. vulg. und gewisse günstige Bedingungen. Je nach diesen Umständen sind die in Prot. vulg. erzeugten Veränderungen mehr oder weniger tiefgreifend; entweder verschwinden sie bald, oder die neuen serologischen Eigenschaften werden durch Vererbung von einer Generation zur anderen dauernd übertragen.

II.

Nachdem die Frage über das Entstehen der X 19 aus den vulgären Proteen als vollständig aufgeklärt anzusehen ist, bleibt kein Zweifel, daß die Weil-Felixsche Reaktion zu den Paragglutinationserscheinungen gehört. Der einzige Einwand, den man gegen diese Annahme gewöhnlich macht, nämlich daß die Stämme, welche Paragglutination aufweisen, in der Regel bald diese serologische Eigenschaft verlieren und wieder in den gewöhnlichen Ausgangsstamm übergehen, scheint auf einem Mißverständnis zu beruhen. Nie hat Kuhn behauptet, wie dies Sachs-Mücke und Flatzek annehmen, daß die leichte Vergänglichkeit und Labilität ein charakteristisches Kennzeichen der Paragglutination sei. Kuhn [1]) hielt es selbst für möglich, solche Stämme zu finden, welche ihre Paragglutinabilität lange Zeit behalten. Er zitiert die Arbeit von Dithorn und Neumark, bei denen ein durch Typhusserum paragglutinierter Coli-Stamm während 3 Jahre seine Agglutinabilität nicht verloren hatte. — Vorläufig fehlen eingehende Untersuchungen über paragglutinable Stämme; weswegen es uns zurzeit unmöglich ist, zu entscheiden, ob der Mechanismus der Paragglutination bei verschiedenen Infektionen der gleiche sei [2]). Vielleicht würde er sich als ver-

1) Vgl. Fragen der Paragglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. S. 107.)

2) Wir möchten hier auf einige für die Weil-Felixsche Reaktion und für andere Fälle von Paragglutination charakteristische Eigentümlichkeiten aufmerksam machen. So wiesen z. B. Kuhn und Salus auf die Bedeutung der Individualität des Ausgangsstammes hin, wofür auch die so oft vorkommenden Mißerfolge bei den Versuchen, experimentell einen paragglutinablen Stamm zu erzeugen (Salus, Busson, Markoff) sprechen. Der außerordentlich hohe Titer der Weil-Felixschen Reaktion hat seine Analogie darin, daß paragglutinable Stämme oft von einem Serum in höhere Verdünnung agglutiniert werden, als die Bakterien, welche zur Erzeugung dieses Serums gedient haben (Kuhn, Meggendorfer). Daß die Weil-Felixsche Reaktion nicht bei Tieren mit experimentellem Flecktyphus auftritt, hat endlich auch eine Analogie in den Erscheinungen der Paragglutination. So hat Kuhn beobachtet, daß ein Coli-Stamm durch das Antidysenterieserum eines Kaninchens agglutiniert wurde, nicht aber durch ein gleiches Serum vom Esel, obwohl letzteres einen recht hohen Titer (1:50000)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schieden erweisen. Jedenfalls scheinen uns die Hypothesen, welche die Paragglutination durch Neuauftreten heterologer antigener Gruppen (Kuhn) oder durch deren Adsorption (Paltauf) zu erklären versuchen, wenig wahrscheinlich. Es werden nämlich zuweilen die paragglutinierten Stämme bei größerer Verdünnung agglutinabler als die Stämme, welche zur Immunisierung gedient haben (Meggendorfer, Kuhn und Woithe). Nun ist wohl kaum anzunehmen, daß z. B. bei den Coli-Bazillen mehr dem Bac. dysent. entsprechende agglutinogene Gruppen neuentstehen oder adsorbiert werden können, als sie der Bac. dysenteriae selbst besitzt. Die außerordentliche Höhe des Titers bei der Weil-Felixschen Reaktion im Vergleich zu anderen Infektionen legt die Vermutung nahe, daß hier ganz besondere Beziehungen zwischen den Komponenten der Reaktion bestehen (vgl. Epstein).

Als Anhänger der physikalisch-chemischen Theorie der Immunitätsreaktionen bemühten wir uns auch, die Weil-Felixsche Reaktion von diesem Standpunkte aus zu erklären. Es wurde bereits 1919 von Epstein gezeigt, daß das Serum Flecktyphuskranker eine ganze Reihe physikalisch-chemischer Eigentümlichkeiten aufweist. Wird solch ein Serum der Dialyse unterworfen, so fällt das wasserunlösliche Globulin bei höherer Konzentration spontan aus. Die Menge dieses labilen Globulins im Serum erreicht ihr Maximum kurz vor dem Temperaturabfall, also in dem Moment, wo der Titer der X 19-Agglutination am höchsten steht. Wie die Versuche mit Ammoniumsulfatfällung gezeigt haben, sind die Gesamtglobuline leichter ausfällbar, als die Albumine. Da die Anreicherung der Globuline eine Dispersitätsverminderung des kolloidalen Serums verursacht, können wir die Menge der Globuline als Maß des Dispersitätsgrades des Serums betrachten. Dieser Dispersitätsgrad hat in verschiedenen Stadien der Krankheit eine verschiedene Größe. Demgemäß verändert sich auch der Gehalt des Serums an Globulin: in normalem Serum ist das Verhältnis von Albumin-Globulin (Eiweißquotient) größer als 1, im Flecktyphusserum dagegen zwischen 0,46—0,8. Wenn wir also auf Grund dieser Angaben von Epstein normales und Flecktyphusserum vergleichen, so können wir sagen, daß das letztere ein Eiweißkolloid von geringerem Dispersitätsgrade, also weniger stabil ist. Es ist deswegen zu erwarten, daß Flecktyphusserum durch solche Eingriffe ausgefällt werden kann, welche auf normales Serum keine Wirkung ausüben. Dies läßt sich auch in Wirklichkeit bestätigen. So geben viele Flecktyphussera die Weltmannsche Reaktion (Ausflockung bei Verdünnung mit destilliertem Wasser) und auch die Wa-R. Nach Epstein fallen diese Reaktionen besonders oft positiv in den Fällen aus, wo auch der Titer der Weil-Felixschen Reaktion hoch ist, also wenn die physikalisch-chemischen Veränderungen des Serums am meisten ausgesprochen sind. Durch die leichtere Ausfällbarkeit des Flecktyphusserums läßt sich auch seine merkwürdige Tätigkeit, zahlreiche Bakterien zu agglutinieren, welche in gar keiner Beziehung zum Flecktyphus stehen, so z. B. die zahlreichen, als Flecktyphuserreger angesehenen Mikroben, ferner die B. typhi abdom., Bac. pyocyaneus usw. erklären. Die Arbeit von Egoroff (aus der Klinik des Prof. Dr. Pletneff, Moskau) bestätigt die Angaben Epsteins. Es erwies sich nämlich, daß die Blutgerinnungskurve beinahe analog der Agglutinationskurve des X 19

den Dysenteriebazillen gegenüber besaß. Gieszczykiewicz fand, daß paragglutinable Coli-Stämme durch Pferdedysenterieimmunserum ganz anders agglutiniert wurden, als durch das entsprechende Kaninchenserum.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verläuft. Nun ist ja bekanntlich die Blutgerinnung ein fermentativer Prozeß, der im wesentlichen vom physikalisch-chemischen Zustande der Ingredienten und des Mediums abhängt (man kann dies schon daraus ersehen, daß die Blutgerinnung durch Zusatz von Eiweiß, größere Mengen Wassers, sowohl wie durch kleine Quantitäten Alkalien resp. schwache Säuren gehemmt wird). Es gewinnen somit für uns die Resultate klinischer Untersuchungen eine ganz erhebliche Bedeutung. — Stellen wir uns nun die Frage, wodurch sich eine Suspension der X 19-Bazillen von einer solchen des Prot. vulg. unterscheidet, so finden wir nur den einen Unterschied, daß die 1. durch Flecktyphusserum agglutiniert wird, die letztere dagegen nicht[1]). Schon die allgemein bekannte Bedeutung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der zur Agglutination gebrauchten Bakteriensuspensionen läßt uns einen Unterschied im physikalisch-chemischen Zustande der 2 obenerwähnten Suspensionen vermuten. Es gibt aber auch Tatsachen, die direkt auf die Bedeutung der physikalisch-chemischen Momente bei der Agglutination der Proteen durch Flecktyphusserum hinweisen. So hat Schapseneff gezeigt, daß bei Zusatz verschiedener Chemikalien (Aether, Chloroform, Formalin usw.) zu einer X 19-Suspension die elektrische Ladung der einzelnen Bakterien sich verändert, wodurch die Agglutination stark beeinflußt wird. Die elektrische Ladung verändert sich auch beim Erwärmen der Suspension bis zu 55—60°, was bekanntlich auch eine große Herabsetzung der Agglutinabilität zur Folge hat. Aus der Arbeit Gildemeisters erfahren wir, daß beim Erwärmen der X 19 (und auch Prot. vulg.) die Oberflächenspannung sich verändert, was mittels der Traubeschen Stalagmometermethode gezeigt werden kann. Aus der hohen Agglutinabilität der Karbol-O-Formen des X 19 läßt sich endlich schließen, daß der Dispersitätsgrad der Bakterienmasse für die Agglutination von Bedeutung ist. Es unterscheiden sich die O-Formen von den gewöhnlichen durch die Abwesenheit der Geißeln, wodurch das Volum jeder einzelnen Bakterie kaum vermindert wird; seine Oberfläche dagegen ganz bedeutend. Es ist somit die Oberfläche der dispersen Phase, die in physiologischer Kochsalzlösung suspendierten Bakterien — stark vermindert, der Dispersitätsgrad ist also auch herabgesetzt. — Zusammenfassend, können wir sagen, daß eine X 19-Suspension andere physikalisch-chemische Eigenschaften besitzt, als eine Suspension vulgärer Proteen. Die erstere ist — wir wiederholen das über Flecktyphusserum Gesagte, — ein wenig stabiles Kolloid, welches beim Zusammentreffen mit einem anderen kolloiden System, dem Flecktyphusserum, ausfällt, wogegen die weniger labile Prot. vulg.-Suspension unter diesen Umständen nicht ausfällt[2]).

Die größere Labilität der X 19-Suspension läßt sich nicht nur durch die Einwirkung von Flecktyphusserum demonstrieren. Aus den Untersuchungen von Braun und Salomon und Schäffer wissen wir, daß auch normales Menschenserum in geringer Verdünnung (1:5—1:10)

1) Zuweilen agglutiniert Flecktyphusserum bei sehr geringer Verdünnung auch den Prot. vulg. (Braun und Salomon, Zechnowizer u. a.), jedoch natürlich nicht jedes Flecktyphusserum und nicht jeden Prot. vulg.-Stamm.

2) Dieser Unterschied des X 19 von Prot. vulg., den wir hier als eine Veränderung physikalisch-chemischer Eigenschaften registrieren, ist gewiß nur der Ausdruck vieler, vielleicht recht komplizierter biologischer Prozesse, die sich unter dem Einflusse des Flecktyphusvirus im Prot. vulg abspielen und die unserer unmittelbaren Beobachtung unzugänglich sind.

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

beinahe immer X 19 agglutiniert, nicht aber den Prot. vulg. Gildemeister beobachtete, daß beim Erwärmen einer X 19-Suspension bis zu 120° ohne jeglichen Zusatz irgendwelcher Ingredientien eine spontane Agglutination eintrat.

Wir gelangen somit zu der Ueberzeugung, daß das Flecktyphusvirus auf beide uns interessierenden kolloidalen Systeme, das Serum des Erkrankten und den Prot. vulgaris, in gleicher Weise einwirkt, indem es ihre physikalisch-chemische Beschaffenheit verändert: es entstehen zwei labile kolloidale Systeme, die wir als „Flecktyphusserum" und „X 19" bezeichnen. Diese Erscheinung kann nicht einen zufälligen Charakter haben, sie bedingt das Auftreten der Weil-Felixschen Reaktion mit allen ihr zukommenden Eigentümlichkeiten.

Schematisch läßt sich das folgendermaßen darstellen (Fig. 1).

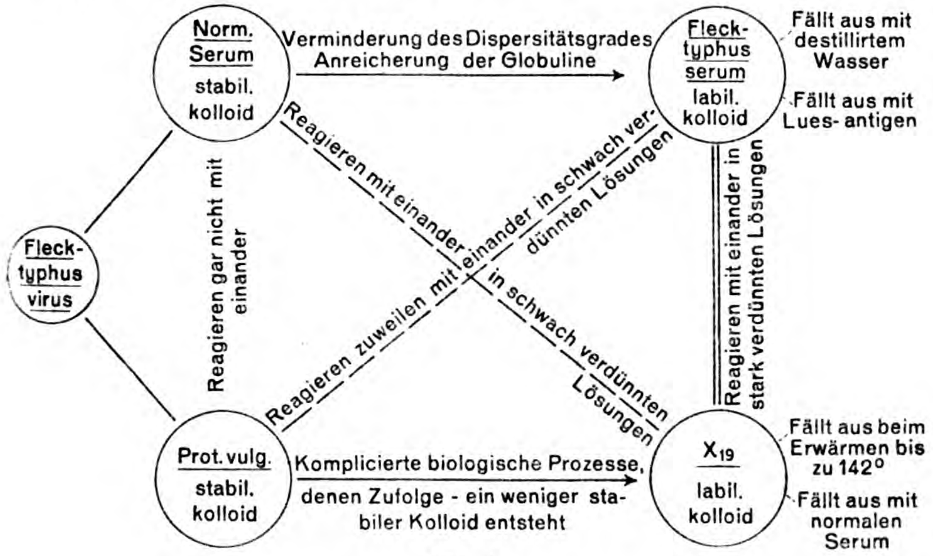


Fig. 1.

Die Entstehung der Ingredientien der Weil-Felixschen Reaktion geschieht nach diesem Schema nur im menschlichen flecktyphuskranken Organismus. Es ist leicht zu ersehen, daß, falls der obere Teil unseres Schemas ausbleibt, die Reaktion nicht zustande kommen kann. Solch einen Fall haben wir bei dem experimentellen Flecktyphus beim Meerschweinchen.

Zahlreiche Untersuchungen verschiedener Autoren haben gezeigt, daß bei flecktyphuskranken Meerschweinchen die W.-F.-Reaktion stets negativ ausfällt [1]). Andererseits haben unsere Versuche gezeigt, daß im Organismus des Meerschweinchens ein Uebergang des Prot. vulg. in X 19 möglich ist. Es bildet sich also hier ein Ingredient der Weil-Felixschen Reaktion, während die entsprechenden Veränderungen des Serums nicht eintreten; somit kann auch nicht die Weil-Felixsche Reaktion zustande kommen. Dieselben Verhältnisse beobachten wir auch bei zahlreichen Versuchen, andere Tiere, (Pferde, Schafe, Hunde

1) Nur Oettinger fand sie positiv, jedoch ist kaum anzunehmen, daß seine Meerschweinchen überhaupt an Flecktyphus erkrankten, da er sie mit bis 55° erwärmtem Virus infiziert, diese Temperatur aber das Virus bereits in 15 Min. abtötet (Anderson und Goldberger).

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

und Ziegen) mit Flecktyphusvirus zu infizieren, resp. zu immunisieren (Kraus u. de la Barrera, Russ u. Kirschner). Wahrscheinlich treten auch hier die entsprechenden Veränderungen des physikalisch-chemischen Zustandes des Serums nicht ein; dies kann davon abhängen, daß der Organismus der obengenannten Tiere ganz anders als der menschliche gegen Flecktyphusgift reagiert.

Bis jetzt ist nur 1 Tierspezies bekannt, welche nach Infektion mittels des Virus von flecktyphuskranken Meerschweinchen eine positive W.-F.-Reaktion gibt — die Kaninchen (Weil u. Felix, Friedberger, Weil u. Gruschka). Es tritt aber bei ihnen die W.-F.-Reaktion nicht in allen Fällen auf (Doerr u. Pick, Kraus u. de la Barrera), deswegen kann diese Methode nicht als ein zuverlässiges Mittel zum Nachweis einer Flecktyphuserkrankung der Meerschweinchen dienen. Nach unserem Schema können wir annehmen, daß in den Fällen, wo bei Kaninchen die W.-F.-Reaktion positiv ausfällt, das Flecktyphusvirus eine physikalisch-chemische Veränderung des Serums hervorgerufen hat [1], was das Zustandekommen der Reaktion möglich macht.

Demgemäß können wir uns solcher Ingredientien der W.-F.-Reaktion bedienen. die im Organismus verschiedener Tiere entstanden sind, z.B.:

Stamm Xv (im Meerschweinchen entstanden)	und menschliches Flecktypusserum
	oder
Stamm X19 (im menschlichen Organismus entstanden)	und Flecktyphusserum vom Kaninchen

In den beiden Fällen haben wir eine positive Weil-Felixsche Reaktion. Nehmen wir aber einen nicht durch Flecktyphus veränderten Ingredienten, Pferde-, Meerschweinchen-, Hundeserum etc., oder den Prot. vulg., so bekommen wir ein negatives Resultat.

So stellen wir uns den Mechanismus der W.-F.-Reaktion vor. Wir sehen vollständig ein, daß eine solche Auffassung hypothetisch ist. Jedoch erklärt uns diese Hypothese eine ganze Reihe bisher unverständlicher Tatsachen und gibt die Möglichkeit zu weiteren experimentellen Nachprüfungen. Ein eingehendes Studium der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Sera von flecktyphuskranken Tieren sowie eine vergleichende Untersuchung der Suspensionen von X 19 und Prot. vulg. vom Standpunkte ihrer Stabilität als kolloide Systeme, ein Studium, welches für uns zurzeit unzugänglich ist, werden unsere Auffassung der W.-F.-Reaktion bestätigen, oder, falls sie unrichtig ist, zu einer anderen Auffassung führen [2].

1) Um uns vorzustellen, ob der Prot. vulg. auch im Organismus flecktyphuskranker Kaninchen in X19 übergeht, infizierten wir 2 Kaninchen durch je 5 ccm Flecktyphusblut und führten ihnen Kollodiumsäckchen mit Prot. vulg. in die Bauchhöhle ein. Die Kaninchen geben weder Temperaturanstieg noch die W.-F.-Reaktion (sogar bei Serumverdünnung 1:10). Nach 2 Wochen wurden die Prot. vulg. aus den Säckchen auf Agar übergesät. Die Kulturen zeigten keine Veränderung ihrer serologischen Eigenschaften. Man kann jedoch diese Versuche nicht für beweisend halten, da wir keine Anhaltspunkte haben, sicher zu sein, daß die Kaninchen tatsächlich erkrankten.

2) Anm. bei der Korrektur. In der letzten Zeit gelang es uns in gemeinschaftlicher Arbeit mit Prof. W. Barikin und Dr. Friese zu beweisen: 1) daß Flecktyphussera bei Hinzufügung von kolloidal. Gold, welches keinen Einfluß auf Sera der gesunden und an anderen Infektionen kranken Menschen ausübt, ausfallen; 2) daß die Agglutination der Bakterien durch kolloidal. Eisen, X 19 durch eine kleinere Menge von kolloidal. Eisen, als Prot. vulg. agglutiniert wird. Diese Ergebnisse, die unsere Theorie auf experimentellem Wege bestätigen, werden in nächster Zeit in Druck erscheinen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich möchte an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Prof. W. Barikin, meinen aufrichtigsten Dank aussprechen für seine wertvollen Ratschläge und Hilfe während meiner Arbeit.

Literatur.

1) Barikin u. Sdrodowsky, Wratschebnoe delo. 1919. Nr. 22. — 2) Busson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1919. H. 4/5. — 3. Bhemer, Arch. f. Hyg. Bd. 89. 1920. H. 7/8. — 4) Ditchorn u. Neumark, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. — 5) Egoroff, Sypnoi typh. Pletneff. 4. Aufl. Moskau. S. 85. — 6) Finger u. Kollert, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 10. — 7) Flatzek, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 7. — 8) Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 35. 1922. H. 1/2. — 9) Felix u. Mitzenmacher, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 36. — 10) Gergely, Ebenda. 1917. Nr. 40. — 11) Gieszczykiewicz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. H. 2. — 12) Gildemeister, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. — 13) Hamburger u. Bauch, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1227. — 14) Iwaschinzeff, Nautschnaja mediz. 1919. Nr. 4—5. — 15) Klieneberger, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. S. 84. — 16) Kuhn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. — 17) Lehman, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. H. 4. — 18) van Loghem, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. H. 4. — 19) Markoff, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 78. H. 5. — 20) Megendorfer, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. H. 6. — 21) Metschnikoff, zit. nach Utschenie o mikroorganismach. Zlatogorowa. Bd. 3. 1916. — 22) Paltauf, Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikr. 2. Aufl. Bd. 2. — 23) Schmitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. H. 3. — 24) Sachs u. Müke, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 7. — 25) Salus, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. H. 4. — 26) Seiffert, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 30. 1920. H. 5/6. — 27) Tönnissen, Biolog. Centralbl. Bd. 35. 1915; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. H. 5. — 28) Weil, Wien. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 3; Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 35. 1922. H. 1/2. — 29) Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1920. S. 423. — 30) Weil u. Gruschka, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. 1921. H. 3. — Wolf, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. H. 1/3. — 32) Zechnowizer, Sbornick statei po mikrobiologii. Charkow. 1922. p. 1. — 33) Schapscheff, Ibid. S. 214. — Siehe auch das Literaturverzeichnis in der Arbeit Silbers Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. H. 7/8.

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie des Herpes zoster.

Ein Beitrag zum Herpes- und Encephalitisproblem.

[Aus der II. med. Univ.-Klinik in Wien (Vorstand Hofrat Prof. Dr. N. Ortner).]

Von **A. Luger** und **E. Lauda.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Im folgenden soll kurz über Untersuchungen berichtet werden, die von einem, wie uns scheint, prinzipiell wichtigen Falle ausgehen[1]).

Patientin M. W. der psychiatrischen Univ.-Klinik in Wien (Vorstand Hofrat Prof. Wagner-Jauregg), 45 J. alt.

Auszug aus der Anamnese: Krankheitsbeginn am 1. März 1923, 14 Tage vor der Aufnahme in die Klinik, unter heftigen, in ihrer Lokalisation wechselnden, bohrenden Schmerzen. Sie traten zuerst in der rechten Bauchseite und im Rücken, in das Gesäß ausstrahlend, auf, wenige Tage später waren sie in der linken Bauchseite, bald darauf

1) Herrn Privatdozenten Dr. Schilder, Assistenten der psych. Universitätsklinik in Wien sind wir für die Ueberlassung von Material und Krankengeschichte zu besonderem Danke verpflichtet.

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

in der rechten, noch später in der linken unteren Extremität lokalisiert. Seit Beginn der Erkrankung bestehen Zuckungen in den Muskeln des Bauches und der Beine, seit einigen Tagen Ameisenlaufen im rechten Fuß. Leichte Temperatursteigerungen bis 37,6°.

Auszug aus dem Nervenstatus: Pupillenreaktion, Conjunctival-, Corneal- und Rachenreflexe normal. Hirnnerven o. B. Keine Doppelbilder, kein Nystagmus. Keine Nackensteifigkeit. Im Bereich der Bauchmuskulatur gelegentlich blitzartige Zuckungen, die auch durch Reiben und Drücken der Bauchwand ausgelöst werden können. Im Bereich der unteren Extremitäten geringgradige Herabsetzung der groben motorischen Kraft. Fast konstante Zuckungen im Bereich der Unterschenkelmuskulatur und in der Oberschenkelmuskulatur beiderseits, feinschlägiger Tremor im Bereich der Finger. Bauchdeckenreflex r. > l. (rechter unterer nicht auslösbar). P.S.R. r. = l. <, kein Klonus, kein Oppenheim. A.S.R. r. = l. <, Babinsky negativ, Kernigsches Phänomen beiderseits positiv. Starke Hyperalgesie im Bereich beider Unterschenkel (l. > r.), im Bereich der Füße „pamstiges" Gefühl, wie Ameisenlaufen. Vermehrter Harndrang bei geringen Einzelportionen. Obstipation. Ganz leicht paretisch. Harnbefund normal.

Auszug aus dem Decursus morbi: Subfebrile Temperaturen. Am 22. März traten in der rechten Glutäalgegend an zwei Stellen Herpes zoster-Bläschen in Gruppen auf. Die Muskelzuckungen schwanden ungefähr am 1. April 1923. Die Schmerzen hielten noch lange Zeit an. Der Zustand besserte sich langsam. Patientin wurde am 31. Juli 1923 in gutem Zustande entlassen.

Der Inhalt der am Tage vorher aufgetretenen Zosterblasen wurde am 23. März auf die vorher mit 4%iger Kokainlösung anästhesierte Cornea des Kaninchens 53 durch Skarifikation mittels einer mit Bläscheninhalt beschickten Lanzette übertragen. Nach 24 Std. hatte sich eine eitrige Conjunctivitis, welche zum Verkleben der Lider führte, entwickelt. Die Impfstriche der Cornea waren leicht erhaben, weißlich infiltriert, die ganze Cornea diffus leicht getrübt. Nach 48 Std. hatten die Entzündungserscheinungen bedeutend zugenommen. Im Bereiche der Impfstriche waren flache Substanzverluste zu sehen, die eine dendritische Verzweigung eben erkennen ließen. Diese eigenartige Konfiguration der Hornhautdefekte trat deutlicher zutage, als nach Enukleation des einen Auges der Bulbus zwecks Fixation in Sublimat-Eisessig getaucht wurde (Figur 1).

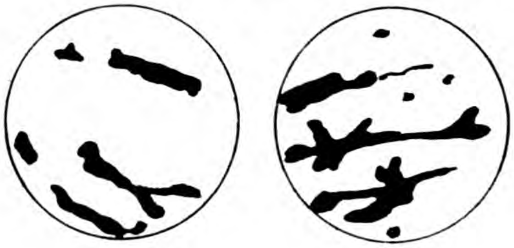


Fig. 1. Fig. 2.

Nach 72 Std. hatte die Keratoconjunctivitis am anderen Auge einen noch höheren Grade erreicht. Es wurde von dieser Cornea abgeimpft und mit dem so gewonnenen Material ein neues Tier, K. 53a, geimpft. Am rechten Auge wurde die Cornea unter den gleichen Bedingungen wie K. 53 skarifiziert, am linken wurde ohne Skarifikation Conjunctivalsekret in den Conjunctivalsack eingebracht. Hierauf wurde das Tier K. 53 getötet, der Bulbus enukleiert und in Sublimat-Eisessig fixiert. Auch hier war die dendritische Anlage der Substanzverluste in charakteristischer Weise entwickelt (Figur 2).

Histologie der Cornea. Die Cornea des nach 48 Std. enukleierten Auges zeigte Epitheldefekte, die bereits weit über den Bereich der Impfstriche hinausgingen. In der Umgebung der Impfstriche war das Stratum proprium corneae mit pseudoeosinophilen Leukozyten dicht infiltriert. Im Impfspalt selbst lagen noch vielfach zum Teil adhärente, zum Teil frei liegende degenerierte Epithelzellen. Diese sowohl als auch die in der weiteren Umgebung der Impfstriche noch an normaler Stelle liegenden Epithelzellen zeigten schwerste degenerative Veränderungen: Oedematöse Quellung der Zellen, Unnas ballonierende Degeneration, Riesenzellbildung, z. T. ebenfalls in ballonierender Degeneration. Schließlich zeigten viele Epithelzellkerne, sowohl solcher Zellen mit ballonierender Degeneration als auch anderer jene Kerndegenerationsform, die wir seinerzeit als oxychromatische Kerndegeneration bezeichnet haben. Dieselbe entspricht

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

der zuerst von Kopitowsky in der Zosterblase beschriebenen, später von Lipschütz in der Blase und in der Impfkeratitis beim Herpes zoster studierten Veränderung, deren Vorkommen beim Herpes simplex Lipschütz und Luger und Lauda beschrieben haben.

Das Auge mit der 72stündigen Keratitis bot histologisch ein prinzipiell gleiches Bild, nur war das Epithel bis auf wenige Reste verloren gegangen, das Stratum proprium corneae in allen Schichten von pseudoeosinophilen Leukozyten dicht infiltriert. Auch hier zeigten die noch erhaltenen Epithelzellen, ebenso wie fixe Hornhautkörperchen z. T. oxychromatische Kerndegeneration.

Am rechten Auge des Passagetieres K. 53a entwickelte sich nach 24 Std. das typische Bild der herpetischen Keratoconjunctivitis, am linken Auge war die Cornea diffus getrübt, die Conjunctiva leicht entzündlich injiziert und etwas eitrig belegt. In den nächsten Tagen nahm die Augenaffektion beiderseits an Intensität stark zu, doch verliefen die Erscheinungen am linken Auge weniger stürmisch wie am rechten. Am 8. Tage zeigte das Tier allgemein nervöse Symptome; es schien eine leichte rechtsseitige Hemiparese zu haben, und fiel auf die rechte Seite. Fluchtversuche. An diesem Tage wurde vom rechten Auge aus eine corneale Passage auf K. 52 angelegt. K. 53a wurde am nächsten Morgen tot aufgefunden. Beim Eintauchen des enukleierten Bulbus der linken, also conjunctival geimpften Seite in die Fixationsflüssigkeit zeigte dieser einen charakteristisch verzweigten Substanzverlust der Cornea, während die rechte Cornea einen großen, nicht charakteristischen Defekt aufwies.

Histologischer Befund von Cornea und Gehirn (K. 53a). Cornea: Das Epithel ist zum größten Teil verloren gegangen. Vereinzelte der noch erhaltenen, schwer geschädigten Zellen zeigen oxychromatische Kerndegeneration. Stratum proprium diffus leukozytär infiltriert. Der Befund deckt sich im wesentlichen mit dem bei K. 53 früher beschriebenen.

Gehirn: Es findet sich eine diffuse Meningitis, welche an der Hirnbasis die größte Mächtigkeit erreicht. Die Zellen, welche die Meningen infiltrieren, sind zum größeren Teil monozytäre Elemente, zum kleineren Leukozyten. Diese finden sich teils zwischen den Mononukleären einzeln verstreut, teils aber auch in inselförmigen, fast nur aus Leukozyten bestehenden Ansammlungen, welche den Eindruck kleinster miliarer Abszesse machen. Im Bereich dieser Leukozytenansammlungen greift die leukozytäre Infiltration auch auf die äußerste Randzone des Gehirns selbst über. Die Meningitis findet sich auch an der Hirnkonvexität und zwischen den Windungen, besonders in der Sylvischen Furche. Die Meningealgefäße sind stark hyperämisch. Im Gehirn selbst finden sich zahlreiche perivaskuläre Infiltrate. Die Infiltratzellen sind hier fast ausschließlich monozytäre Elemente, nur ganz vereinzelt finden sich Leukozyten. Die perivaskulären Infiltrate finden sich im ganzen Gehirn, in Rinde und Mark, am reichlichsten aber im Gyrus hippocampi, wo alle von der Pia in das Hirnparenchym ziehenden Gefäße von einem dichten Zellmantel umgeben sind. Parenchymatöse, mit den Gefäßen anscheinend nicht in Zusammenhang stehende monozytäre Infiltrate finden sich nur in geringerer Anzahl. Vereinzelt finden sich auch im Hippocampus aus Leukozyten sich zusammensetzende miliare Abszesse, kleinere als in der Hirnrinde. Auch im Hirnstamm und im verlängerten Mark waren monozytäre Infiltrate nachzuweisen. Das Kleinhirn ist frei. Die Ganglien und Gliazellen zeigen vielfach, insbesondere wieder im Gyrus hippocampi, jene eigentümliche Kerndegeneration, die wir im Gehirn der Kaninchen bei der herpetischen Encephalitis ausführlich besprochen und seinerzeit als oxychromatische Degeneration bezeichnet haben. Diese Degeneration ist charakterisiert durch Randstellung des Basichromatins, Verdickung der Kernmembran, Auftreten von einer oder mehreren sich oxyphil sich färbenden Binnenmassen im Kern. Diese Massen geben die seinerzeit von uns geschilderten Farbenreaktionen. (Wir haben oben schon darauf hingewiesen, daß wir die gleiche Kerndegeneration in den Epithelzellen der geimpften Cornea haben nachweisen können.) Wie wir in einer früheren Publikation gezeigt haben, entsprechen die Vorstufen dieser vollentwickelten Degenerationsform, bei welchen sich im Kern kleinere und größere Klümpchen oxyphiler Substanz finden, den neurocorpuscules encéphalitiques, wie sie Levaditi, Harvier und Nicolau bei der experimentellen Encephalitis epidemica beschrieben haben. Diese Gebilde haben wir auch hier gefunden. Ebenso konnten wir in diesen Präparaten die „minute bodies“ von da Fano nachweisen, die wir ja auch seinerzeit an den Herpesgehirnen studiert und als Kernzerfallsprodukte der verschiedensten Zellen aufgefaßt haben.

Von diesem Tiere K. 53a wurden neben der oben erwähnten Cornealpassage auf K. 52 mit dem Gehirnbrei 2 weitere Passagen angelegt, einerseits corneal mit Impfung beider Augen auf K. 40, andererseits subdural auf K. 93.

Das in der Cornealpassage geimpfte K. 52 ergab ein positives Impfresultat an der Cornea. Das Tier ging, ohne Erscheinungen zu zeigen, nach 11 Tagen ein. Die histo-

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

logische Untersuchung des Gehirns ergab einen positiven, dem früher ausführlich geschilderten analogen Befund. Unter den Infiltratzellen überwogen auch hier die monozytären Elemente über die Leukozyten.

Das subdural geimpfte Tier K. 93 ging nach 5 Tagen, ohne Erscheinungen zu zeigen, ein. Die histologische Untersuchung des Gehirns ergab ebenfalls ein im obigen Sinne positives Resultat.

Das zweite mit dem Gehirnbrei am 23. Juli 1922 corneal geimpfte Tier K. 40 zeigte auf beiden geimpften Augen nach 48 Std. einen typischen herpetischen Impfeffekt. Dieser begann 8 Tage nach der Impfung, nachdem er sich voll entwickelt hatte, unter Einwachsen von Gefäßen vom Limbus her, abzuklingen, um mit Hinterlassung einer dichten Trübung abzuheilen. Am 4. Tage der cornealen Infektion war von diesem Tier eine weitere corneale Passage auf K. 0 angelegt worden. Auch hier wurden auf beiden Augen positive Resultate erzielt. Ein Auge dieses Tieres wurde am 3. Tage enukleiert, das Tier am 4. Tage getötet. Beide Bulbi wurden in Zenkerscher Lösung fixiert. Die histologische Untersuchung der Cornea ergab ein positives Resultat, auch hier fanden sich reichlich Epithelzellen mit oxychromatischer Degeneration der Kerne.

Fassen wir das Ergebnis der Ueberimpfungen des Zosterbläscheninhaltes auf das Kaninchen zusammen, so können wir kurz sagen, daß es gelungen ist, eine schwere dendritische Keratitis mit eitriger Conjunctivitis nach einer kurzen Inkubation von 24 Std. zu erzielen, welche sich in 3 weiteren Kaninchenpassagen fortführen ließ. Bei einem der korneal geimpften Tiere entwickelten sich nach 10 Tagen schwere nervöse Allgemeinerscheinungen, denen das Tier erlag, und das Gehirn des Tieres gab histologisch den Befund einer schweren Meningoencephalitis. Ein mit dem Gehirn des corneal geimpften Tieres subdural infiziertes Kaninchen ging nach 5 Tagen ebenfalls mit positivem histologischen Befund am Zentralnervensystem ein.

Es ist somit wohl berechtigt, in dieser Passagereihe von einem lebenden Virus zu sprechen, das sich für die Hornhaut und für das Gehirn des Kaninchens pathogen erwies. Dieser Befund ist ein höchst auffälliger und steht im schroffen Gegensatz zu unseren seinerzeit mitgeteilten experimentellen Beobachtungen, sowie zur überwiegenden Mehrzahl der von anderen Autoren mitgeteilten diesbezüglichen Versuche (Baum, Fontana, Lipschütz, Luger und Lauda, Mariani, Morelli, Teissier, Gastinel und Reilly, Truffi u. a.). Wir selbst haben in einer früheren Mitteilung berichtet, daß wir in 7 Fällen von Herpes zoster eine corneale Impfung mit Zosterblaseninhalt auf je ein Kaninchen und 1mal auf ein Meerschweinchen mit negativem Erfolg versucht haben. In keinem Falle konnte eine irgendwie charakteristische makroskopische Reaktion nachgewiesen werden; in seltenen Fällen wurden wohl kleinste, nicht charakteristische Trübungen, 1mal auch eine leichte Conjunctivitis, beobachtet, ohne daß diese Befunde über das hinausgegangen wären, was auch bei sterilen Kontrollimpfungen der Cornea gelegentlich zu sehen ist. Es ist auch damals ausdrücklich betont worden, daß — und auch gerade darin liegt ein Gegensatz zu dem hier mitgeteilten Fall — nach Behandlung des Bulbus nach der von uns angegebenen Weise mit Zenkerscher Lösung oder im Hückel-Paulschen Versuch keine umschriebenen Trübungen oder Substanzverluste nachgewiesen werden konnten. Allgemeinerscheinungen konnten von uns mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden; ein Tier soll, ohne daß wir Gelegenheit hatten, es persönlich zu beobachten, unter leichten Krämpfen und Schreien plötzlich ad exitum gekommen sein. Wir sind damals zu der Schlußfolgerung gekommen, daß die Verimpfung von Herpes zoster-Blaseninhalt auf die Kaninchencornea im Gegensatz zum Herpes simplex (febrilis, genitalis, corneae) keine charakteristische makroskopische Reaktion, keine eitrige Conjunctivitis hervorruft. Eine flüchtige Durchsicht unserer heute mitgeteilten Protokolle

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

beweist das oben Gesagte, daß hier ein vollkommen verschiedenes Verhalten zutage tritt. Andererseits ist ohne weiteres die auffallende Uebereinstimmung hinsichtlich der makro- und mikroskopischen cornealen Reaktion, der allgemeinen klinischen Erscheinungen und der Tierpassagen mit den vom Herpes simplex her bekannten Erscheinungen unverkennbar. Auch der histologische Befund sowohl der geimpften Cornea als auch des Gehirns des corneal und subdural infizierten Tieres ergab einen Befund, der sich mit dem der herpetischen Impfkeratitis, bzw. herpetischen Encephalitis vollkommen deckt. Wir möchten in dieser Hinsicht, namentlich was den cornealen Befund anlangt, besonderen Wert auf die regelmäßig in zahlreichen Epithel- und Bindegewebszellkernen in der Umgebung der Impfstriche auftretende oxychromatische Degeneration legen. Seinerzeit haben wir ausdrücklich betont, daß wenigstens in unseren Versuchen nach Verimpfung von Herpes zoster-Blaseninhalt, im Gegensatz zur Impfung mit Herpes simplex, eine oxychromatische Degeneration der Epithelzellkerne nicht nachweisbar ist. Auf die Details der sonstigen histologischen Befunde möchten wir hier nicht näher eingehen; sie wurden ja für den Herpes febrilis von Grüter, Lipschütz, Löwenstein, Luger und Lauda sowie Stocker seinerzeit ausführlich beschrieben.

Ein den oben beschriebenen Versuchsprotokollen analoges vollwertiges Versuchsresultat bei Ueberimpfungen des Herpes zoster auf das Kaninchenauge liegt in der Literatur bisher nicht vor. Nur einige wenige Fälle müssen diskutiert werden, bei welchen die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden kann, daß es sich vielleicht um Aehnliches handelt, d. h. daß ein lebendes Virus überhaupt und vielleicht ein solches von gleicher Art wie in unserem Fall übertragen wurde, wenn auch ein strikter Beweis aus den diesbezüglichen Arbeiten dafür nicht entnommen werden kann.

Hier wären an erster Stelle die Versuche von Mariani hervorzuheben. Mariani hat wohl in den meisten Versuchen, die die Uebertragung des Herpes zoster auf das Kaninchen zum Ziele hatten, ein vollkommen negatives Resultat zu verzeichnen gehabt. Ein Fall von Panophthalmie kommt für unsere Frage wohl nicht in Betracht, wohl aber ein zweiter Fall, in welchem es ihm gelang, beim Tiere eine in der Passage weiter übertragbare Keratitis durch Verimpfung von Zosterblaseninhalt hervorzurufen, welche, soviel wir aus den uns im Referat zugänglichen Arbeiten entnehmen können, makro- und mikroskopisch große Aehnlichkeit mit der durch Herpes simplex erzeugten Keratoconjunctivitis zeigte. Nervöse Symptome konnte Mariani nicht beobachten. Er läßt die Frage offen, ob die von ihm durch Zostermaterial am Kaninchen hervorgerufene Keratitis mit der herpetischen Impfkeratitis identisch ist.

Keratoconjunctivitis und Allgemeinerscheinungen wurden von Truffi in einer von 3 Versuchsreihen beobachtet. Nach Verimpfung von Zosterbläscheninhalt auf die Cornea konnte auch dieser den Ablauf einer leichten Keratoconjunctivitis beobachten, welche nach 7 Tagen abheilte. Am 22. Tage nach der Inokulation traten bei diesem Tiere Allgemeinerscheinungen in Form von Drehungen um die Längsachse, Salivation und Lichtstarre der Pupille auf. 10 Tage später wurde das Tier getötet, und die histologische Untersuchung des Zentralnervensystems ergab eine Hyperämie der Meningen und vereinzelte lymphozytäre Infiltrate um die Gefäße der Pia. Auch dieser Autor zieht keinen weitgehenden Schluß aus seiner vereinzelten Beobachtung, sondern verweist nur auf die Aehnlichkeit der Befunde mit denen, wie sie aus der Herpes febrilis-Literatur bekannt sind.

Die Fälle von Lipschütz, der als erster den Gedanken ausgesprochen hat, daß bei Herpes zoster ein auf die Kaninchencornea übertragbares lebendes Virus vorliegt, müssen ausführlicher besprochen werden. Es gelang ihm, unter 7 Fällen auf der mit Zosterbläscheninhalt geimpften Cornea 3mal ein einwandfrei positives und 1mal ein schwach positives Resultat zu erzielen. In den positiven Fällen war die Cornea nach 24 Std. reaktionslos; nach 48 Std. war eine geringgradige Conjunctivitis aufgetreten und an einer umschriebenen Stelle der Impflinie entwickelte sich eine ziemlich

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

scharf abgegrenzte, grau-weißliche Keratitis unter dem Bilde einer vorragenden, rundlichen, eitrig getrübten Bläscheneffloreszenz, die, sich selbst überlassen, in den nächsten Tagen kein weiteres Fortschreiten zeigte, auch nicht nach Platzen der Bläschendecke, die vielmehr rasch in Heilung überging. Histologisch fand er in den Cornealschnitten eine ödematöse Durchtränkung der Hornhaut, Leukozyteninfiltrationen, durch Abheben des Corneaepithels von den darunter liegenden Schichten entstandene miliare Bläschen, degenerative Veränderungen an den Epithelzellen, unter diesen nur selten ballonierende Degeneration. Der Autor hebt hervor, daß im Vergleich mit den stürmischen Erscheinungen nach der Impfung mit H. febrilis und genitalis die Reaktion bei Zosterimpfung viel weniger deutlich erscheint. Wenn wir uns fragen, ob diese Befunde wirklich die Existenz eines lebenden Virus beweisen, so ist diese Frage unserer Meinung nach zu verneinen. Das von Lipschütz hauptsächlich gebrauchte Argument, das Auftreten der von ihm als Einschlüsse aufgefaßten Kernveränderungen der Epithelzellen, die wir später als oxychromatische Kerndegeneration betrachtet haben, beweist an sich die gelungene Uebertragung nicht, um so mehr, als Tierpassagen anscheinend nicht vorgenommen wurden. Nur auf Grund eines von vornherein nicht berechtigten Analogieschlusses mit dem Herpesvirus kann die Auffassung eine gewisse Stütze erhalten.

Fassen wir die hier referierten Arbeiten zusammen, so sind die Befunde dieser Autoren in einigen Punkten sehr wohl mit unserem Falle vergleichbar. Da wir ja hier im Gegensatz zu früheren Untersuchungen sogar reichlich oxychromatische Kernveränderungen gefunden haben, schlägt dieser Umstand eine Brücke zu den Beobachtungen von Lipschütz. Die Schilderung der aufgetretenen Keratitiden der verschiedenen Autoren scheint, soweit es sich beurteilen läßt, vom Typus der herpetischen Keratitis nicht allzu weit entfernt zu sein, wenn auch zweifellos, wie im Falle Lipschütz, Unterschiede in der Art des klinischen Verlaufs und der Art der Infiltrate zu finden sind. Die von Truffi beobachteten Allgemeinerscheinungen und der in einem Falle wenigstens angedeutete positive histologische Befund im Zentralnervensystem fügen sich gleichfalls bis zu einem gewissen Grade in den Rahmen unserer Beobachtungen. Leider ist ein sicherer Vergleich unseres Falles mit denen der Literatur nicht möglich, da bei letzteren wichtige Versuchsanordnungen ausständig sind. Die Möglichkeit läßt sich nicht ausschließen, daß allen diesen Uebertragungsversuchen ein gleiches Virus zugrunde gelegen hat.

Ist die Aehnlichkeit der Versuchsergebnisse dieser Autoren mit denen bei Herpes febrilis nur eine flüchtige, so decken sich die Bilder in unserem Falle vollkommen. Die Identität unseres im Zosterbläscheninhalt nachgewiesenen Virus mit dem Herpes simplex-Virus wird aber noch durch den gekreuzten Immunitätsversuch einwandfrei bewiesen, der im folgenden geschildert werden soll.

Immunitätsversuch.

K. 40, welches, wie aus der vorhergehenden Darstellung ersichtlich ist, an beiden Augen eine Keratoconjunctivitis nach Impfung mit Zosterblaseninhalt durchgemacht hatte, wurde zu Immunversuchen verwendet.

Am 14. Mai 1923, also 40 Tage nach der 1. Impfung, wurde es mit unserem Encephalitisstamm Wien beiderseits corneal geimpft. Gleichzeitig wurde der Encephalitisstamm zur Kontrolle auf 5 Tiere übertragen. Zwei dieser Tiere waren bisher in keiner Weise vorbehandelt (K. 69 und 35), die 3 weiteren Kontrollen (K. 44, 02, 1028) bereits in verschiedener Weise geimpft worden. Und zwar handelte es sich bei K. 44 um eine 27 Tage zurückliegende, subdurale, erfolglose Impfung mit einem Encephalitisstamm anderer Provenienz, bei K. 02 um ein Herpes febrilis-Immuntier (intravenöse Impfung von Herpes febrilis-Bläschenausschwemmung vor ungefähr 7 Mon.), beim 3. Tier um ein Kaninchen, welches erst mit H. feb. mit positivem Erfolg corneal geimpft worden war und schon bei cornealer Nachimpfung mit H. genitalis gegen diesen Immunität gezeigt hatte (Intervall von der 1. febrilis-Impfung bis zur Encephalitisimpfung ungefähr 14 Monate).

Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Der Encephalitisstamm (Wien), welcher zur Impfung dieser 5 Tiere in diesem Versuche verwendet wurde, wurde von uns aus dem Liquor eines Encephalitiskranken gezüchtet; er hatte bereits eine vielfache Tierpassage durchgemacht, war durch 5 subdurale Passagen (Kaninchen bzw. Meerschweinchen) gelaufen und wurde dann noch in weiteren 3 Passagen corneal am Kaninchen weitergeführt. Die Impfung selbst wurde von dem dritten dieser Cornealpassagetiere, K. 27, durchgeführt, bei dem sich eine schwere herpetiforme Keratitis entwickelt hatte[1]).

Da ein Teil dieser Versuche von anderen Gesichtspunkten aus in der früher erwähnten Arbeit ausführlich geschildert ist, soll von der Wiedergabe genauer Versuchsprotokolle abgesehen und betont werden, daß sich der Stamm Wien mit dem Herpes simplex-Virus identisch erwies. Folgende Zusammenstellung zeigt die Resultate der Impfungen:

K. 35 u. K. 64: Reine Kontrolltiere.	K. 44: reines Kontrolltier, mit Enc. m. neg. Erfolg vorbeh.	K. 02: Febrilis-Immuntier.	K. 1028: Genitalis-Immuntier.	K. 40: Zoster-Immuntier.
Herpetische	Keratoconjunctivitis.	Deutlich schwächere Reaktion als die Kontrolltiere.	neg.	neg.

Dieser Versuch zeigt, daß das mit dem „Zostervirus“ unseres Falles vorbehandelte Tier nach dem Uebersiehen der cornealen Infektion eine einwandfreie Immunität gegenüber einer Reinfektion mit einem Encephalitisstamm akquiriert, sich also mit dem Herpes simplex (febrilis, bzw. genitalis) infizierten Tieren immunologisch analog verhält. Die Kontrollen zeigten eine einwandfreie Reaktion, auch das mit einem Encephalitisstamm vorbehandelte Tier K. 44 kann als vollwertige Kontrolle angesehen werden, da die 1. Impfung erfolglos blieb, und viele an der oben zitierten Stelle niedergelegten Beobachtungen zeigen, daß derartige negative Impfversuche das Verhalten des Tieres bei Revakzination in der Regel nicht beeinflussen.

Das gleiche Tier K. 40, welches also schon Immunität gegen einen Encephalitisstamm gezeigt hatte, wurde nach 7 Tagen mit dem Bläscheninhalt eines Herpes febrilis-Stamm L nachgeimpft.

Dieser Herpes febrilis-Stamm hatte bereits eine Kaninchen-Cornealpassage durchgemacht und wurde nun von der schwer erkrankten Cornea des Kaninchens K. 66 am 4. Tage des Bestehens der Keratitis auf das in Rede stehende Immuntier K. 40 übertragen. Als Kontrolle diente ein nicht vorbehandeltes Tier (K. 27). Während der Herpes febrilis-Stamm am Auge des Kontrolltieres aufging, blieb das Auge des Immuntieres K. 40 glatt, es entwickelte sich nur eine leichte zentrale Keratitis ohne Conjunctivitis (Austrocknen nach Kokainisierung), deren unspezifischer Charakter durch einen negativen cornealen Uebertragungsversuch auf K. 93 sichergestellt wurde.

Der Versuch lehrt also, daß das primär mit Zosterbläscheninhalt mit positivem Erfolg geimpfte und später gegen ein Encephalitisvirus refraktäre Tier sich auch gegen eine Nachimpfung mit Herpes febrilis als immun erwies. Mit Rücksicht auf das kurze Intervall zwischen den beiden Impfungen und vor allem mit Rücksicht auf die Tatsache, daß nach Impfung mit dem Encephalitisstamm keine Erscheinungen aufgetreten waren, kann mit Sicherheit angenommen werden, daß auch für den negativen Ausfall der Febrilisnachimpfung die primär überstandene Infektion mit unserem „Zostervirus“ ursächlich herangezogen werden muß.

Das Resultat unserer Untersuchungen beweist die Identität des in unserem Falle aus dem Zosterbläschen gezüchteten Virus mit dem des Herpes simplex.

1) Hinsichtlich der ausführlichen Darstellung dieser Versuche sei auf unsere in Druck befindliche Arbeit hingewiesen (Ztschr. f. d. ges. exp. Med.).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ohne auf unseren speziellen Fall zunächst eingehen zu wollen, soll erst allgemein die Frage erörtert werden, welche Bedeutung ein gelungener Nachweis des Herpesvirus in der Zosterblase haben kann, und welche Erklärungsmöglichkeiten nach dem bisherigen noch mangelhaften Stande der Kenntnisse über das Wesen des Herpes simplex und des Herpes zoster in Betracht kommen.

Wenn wir uns daran erinnern, daß die meisten Autoren, die sich mit dem Herpes simplex-Problem beschäftigt haben, der Annahme zuneigen, daß wir es bei dem Herpeserreger mit einem ubiquitären Virus der Haut bzw. der Schleimhaut zu tun haben, dann muß naturgemäß die Frage erörtert werden, ob es sich vielleicht nicht um einen Zufallsbefund handeln könnte in dem Sinne, daß ein gerade in dem Falle vorhandenes Herpesvirus und nicht etwa das hypothetische Zostervirus auf das Tier übertragen wurde. Hierzu ist allerdings zu bemerken, daß ausgedehnte Versuchsreihen über ein ubiquitäres Vorkommen des Herpes simplex auf der Haut nicht vorliegen. Nur vereinzelte Untersuchungen wurden bisher in dieser Richtung angestellt. Insbesondere wissen wir nichts über die Verteilung des eventuell saprophytär vegetierenden Virus an den verschiedenen Körperstellen. Ein anderes wichtiges Argument gegen die Annahme eines solchen erblicken wir darin, daß die ungemein zahlreichen Kontrollversuche, die von uns und den verschiedensten Autoren, in letzter Zeit wieder von Friedenwald, bei den verschiedensten Hautaffektionen durchgeführt wurden, stets ein negatives Resultat gaben. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung müssen abgewartet werden. Gegenwärtig erscheint uns die obige Erklärungsmöglichkeit nicht wahrscheinlich.

Das Gleiche gilt für die theoretisch vorliegende Möglichkeit, daß etwa deshalb einmal ein Herpes simplex-Virus aus der Zosterblase gezüchtet werden kann, weil es sich um einen Menschen handelt, in dessen Organismus Herpesvirus kreist, ohne zu lokalen oder allgemeinen Krankheitserscheinungen zu führen. Man könnte sich in diesem Falle vorstellen, daß das Herpesvirus auf dem Blut- oder Lymphwege eben auch in die Zosterblase gelangt und sich deshalb im Cornealversuche manifestiert. Eine solche Annahme hätte vorläufig nur hypothetischen Charakter, da eine experimentelle Stütze hierfür nicht vorliegt. Etwas anders liegt die Fragestellung, wenn neben dem Herpes zoster gleichzeitig an einer anderen Stelle des Körpers Herpes simplex-Effloreszenzen nachzuweisen sind. Daß mit einem solchen Vorkommnis gerechnet werden muß, dafür spricht, abgesehen von allemeinen klinischen Erfahrungen, ein von uns seinerzeit ausführlich mitgeteilter Versuch, bei welchem nicht nur klinisch, sondern auch experimentell die Differenzierung zwischen den beiden Arten der Effloreszenzen durchgeführt werden konnte. Wenn es in diesem Falle zu einer Propagation des Herpes febrilis-Virus in den Organismus kommt, so besteht naturgemäß die Möglichkeit, daß dieses Virus auch in die Zosterblasen gelangt. Daß man aber tatsächlich mit einem Auftreten des Herpes im ganzen menschlichen Organismus bei bestehendem Herpes simplex rechnen muß, wissen wir aus positiven Befunden in Lumbalpunktaten von Bastai und Rouillard bei Herpes genitalis. Wir müssen um so mehr darauf gefaßt sein, irgendwo im Organismus dasHerpes febrilis-Virus anzutreffen, wenn ein Herpes febrilis im Rahmen jenes klinischen Symptomenbildes auftritt, welches als Febris herpetica bezeichnet wird. Auch hier liegen positive Befunde bisher nicht vor, eigene Untersuchungen in dieser Richtung haben vorläufig fehlgeschlagen.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die hier herangezogenen Hypothesen sind somit, wie wir glauben, nicht imstande, unseren Befund zu erklären. Daß trotzdem, allerdings in einem anderen Sinne, ein kausaler Zusammenhang zwischen Herpesvirus und Zoster angenommen werden kann, soll im Folgenden gezeigt werden.

Was die Genese des Herpes zoster betrifft, so scheint, wie das eingehende Studium der Literatur zeigt, von der Mehrzahl der Autoren als erwiesen angenommen zu sein, daß Beziehungen zwischen dem Auftreten von Zostereffloreszenzen und pathologischen Veränderungen in den Spinalganglien bzw. den Ganglien der Hirnnerven bestehen (Blaschko, Fröhlich und Grosser, Head und Campbell, Marburg u. a.). Manche Autoren (Curshman und Eisenlohr, Dubler und Wohlwill u. a.) treten dafür ein, daß ein primärer Krankheitsprozeß im peripheren Nerven, insbesondere im Interkostalnerven, sowie Herde im Rückenmark an sich oder durch Vermittlung der Ganglien des betreffenden Segmentes zur Zostereruption führen können. Außerdem ist es bekannt, daß eine primäre Erkrankung des Ganglions sich auf das Rückenmark fortsetzen kann (Claude und Schaffer, Head und Campbell, Hunt, Zumbusch u. a.).

Erinnert man sich an die zweifellos bestehende Neigung des Herpesvirus, sich im Zentralnervensystem anzusiedeln, so drängt sich der Gedanke auf, daß unter Umständen eine besondere Lokalisation des Virus im Bereiche des Nervensystems, also z. B. im Spinalganglion, peripheren Nerv oder aber im Zentralnervensystem selbst, sekundär, also ganz analog der herrschenden Vorstellung von der Entstehung des Herpes zoster, vielleicht auf dem Wege des von Kreibich angenommenen Reflexvorganges, zur Eruption führt. Es würde sich also in einem solchen Falle um eine Herpesneuritis eines Interkostalnerven, um eine herpetische Entzündung des Spinalganglions oder um eine mehr oder weniger umschriebene herpetische Myelitis handeln. Es sei in diesem Zusammenhang an die interessanten Befunde von Salmann und Friedenwald erinnert, welche schwere Veränderungen in den Ganglien, insbesondere im Ganglion Gasseri, gefunden haben. Daß umschriebene Myelitiden und andererseits auch Opticusneuritis (Marinescu und Dragenescu) auf herpetischer Grundlage vorkommen, hatten wir selbst beim Tiere zu beobachten Gelegenheit.

Wenn wir somit auf Grund dieser Ueberlegungen einerseits zu dem Schluß gekommen sind, daß eine Ansiedlung des Herpesvirus im Zentralnervensystem zur Zostereffloreszenz führen kann, so will es uns scheinen, daß das Auftreten eines Herpes zoster in unserem oben ausführlich beschriebenen Fall leicht seine Erklärung findet. Die Patientin, um die es sich handelte, litt an einer akuten epidemischen Encephalitis. Wenn auch die Aetiologie dieser Erkrankung noch nicht vollständig geklärt ist — eine Frage, mit der sich eine unserer in Druck befindlichen Arbeiten ausführlich beschäftigt — so steht doch andererseits fest, daß von einer größeren Anzahl von Autoren aus dem Gehirn oder Lumbalpunktaten von Encephalitiskranken das Herpesvirus gezüchtet wurde, und daß die Möglichkeit besteht, daß wenigstens einem Teil der Fälle von Encephalitis das Herpes simplex-Virus ursächlich zugrunde liegt.

Die Encephalitis epidemica ist eine Encephalomyelomeningitis. Die Erkrankung kann sich im Gehirn, im Rückenmark und in den Meningen lokalisieren. Nach dem oben Gesagten nun könnte eine derartige Mye-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

litis einen Herpes zoster hervorrufen, und zwar einen Herpes zoster auf herpetischer Grundlage, wenn es sich um eine herpetische Encephalitis gehandelt hat.

Wenn somit die Erklärung des Auftretens eines Herpes zoster bei Encephalitis epidemica keine großen Schwierigkeiten bietet, so ist es nicht leicht, eine sichere Erklärung dafür zu geben, wie das Herpesvirus in die Zostereffloreszenz gelangt. Man könnte sich vorstellen, daß das Virus vom erkrankten Rückenmarksegment oder dem erkrankten Spinalganglion entlang dem Nerven zur Haut wandert, eine Vorstellung, die durch die Angaben einer Reihe von Autoren (Gaviati, Gringolo, Marinescu und Dragenescu u. a.) gestützt wird, die als Erklärung für das Auftreten der Encephalitis im Tierversuch nach Inokulation des Herpesvirus in die Cornea ein Wandern des Virus längs des Opticus angenommen haben. Eine Propagation des Virus entlang dem Nerven wird auch durch die gelungenen Ueberimpfungen des Herpes simplex und der Encephalitis in den peripheren Nerven nahegelegt, ein Versuch, den wir selber bestätigen können.

Es liegt ferner die Erklärungsmöglichkeit vor, daß es in einem Falle von herpetischer Myelitis oder Encephalitis mit entzündlichen Veränderungen im Zentralnervensystem bzw. in den Zentralganglien und konsekutivem Zoster zu einer Ausschwemmung des Virus in den ganzen Organismus aus dem Blut- oder Lymphwege gekommen ist, und daß auf diesem Wege das Virus in die Zosterblase gelangt. Unter diesen beiden Möglichkeiten würden wir der ersteren den Vorzug geben.

Will man den herpetischen Charakter der Encephalitis nicht zugeben — und er ist auch in unserem vorliegenden Falle nicht erwiesen. da wir leider keine Gelegenheit hatten, das Lumbalpunktat des Falles zu untersuchen — dann muß auf jene Möglichkeiten verwiesen werden, die oben diskutiert sind.

Der mitgeteilte Immunversuch, in dem eine Immunität gegen eine corneale Impfung mit unserem Stamme Wien nach vorangegangener Impfung mit dem Virus, welches wir aus der Zosterblase gezüchtet haben, stellt nichts anderes als eine Bestätigung unserer Annahme dar, daß dieses beim Zoster gezüchtete Virus tatsächlich ein Herpesvirus war. Die Wiederholung des Versuches mit Herpes simplex bringt nach all dem, was wir in der oben zitierten ausführlichen Arbeit über die Beziehungen des Herpes febrilis zur Encephalitis besprochen haben, nur eine weitere Bestätigung.

Wenn es sich zeigt, daß alle Encephalitis-Zosteren herpetisch reagieren, so kann man hierin ein Argument für die Behauptung erblicken, daß der Encephalitis epidemica das Herpesvirus zugrunde liegt. In diesem Sinne wäre es wünschenswert, daß alle Zosteren bei Encephalitis auf ihren herpetischen Charakter geprüft würden[1]). Eine gleichzeitige Untersuchung des Lumbalpunktates, der Mundschleimhaut, kurz, aller aller Fundorte des Herpesvirus überhaupt, müßte mit vorgenommen werden.

Abgesehen von dem Interesse, welches der mitgeteilte Fall, wie wir glauben, für die Frage des Zoster und vielleicht auch für die Frage des Encephalitisvirus besitzt, ist er auch geeignet, auf das Herpesproblem ein gewisses Licht zu werfen. Schon in der älteren Literatur (Ger-

1) Ein derartiger Versuch liegt vor. Morel, Tapie und Laborde hatte bei der Verimpfung eines Zoster bei Encephalitis ein negatives Resultat (Bull. med. 1923. p. 402).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hardt) sind Beziehungen zwischen der Ausbreitung der Nerven, namentlich deren feinster Ausläufer und der Herpeseffloreszenz, gesucht worden, welche ja durch die mitunter dem Nerven folgende Anordnung der Bläschen nahegelegt wurde. Auch bezüglich der herpetischen Keratitis des Menschen liegen Befunde von Gilbert vor, die in diesem Sinne sprechen, wenn auch in diesem Punkte sowie hinsichtlich der herpetischen Impfkeratitis des Kaninchens keine volle Uebereinstimmung unter den Autoren besteht (Löwenstein). Die Löwensteinschen Versuche haben Luger seinerzeit veranlaßt, die Annahme einer eventuellen latenten neuritischen Veränderung als nicht zwingend abzulehnen. Nach dem gegenwärtigen Stande der Untersuchungen würden wir aber dieser Annahme zuneigen, wobei das Schwergewicht auf die herpetische Infektion der Endverzweigungen gelegt werden müßte, so daß die Annahme einer Reaktivierung des spezifischen herpetischen Prozesses nach Vakzineinjektionen verschiedener Art weiter Geltung behält. Versuche, vielleicht auf histologischem Wege eine Klärung herbeizuführen, sind im Gange.

Es müßte schließlich daran gedacht werden, ob nicht vielleicht der anscheinend obligate Dermotropismus des Herpesvirus nur ein scheinbarer ist. Es wäre denkbar, daß es sich auch hier, ähnlich, wie wir es ja für den Herpes zoster diskutiert haben, in Wirklichkeit um eine Herpesneuritis im Bereiche der feinsten Verzweigungen der Nerven handelt. Man darf auch nicht vergessen, daß nur die klinische Form des Herpes febrilis durch diesen anscheinenden Dermotropismus gekennzeichnet ist, daß aber nach den bisherigen Untersuchungen keineswegs gesagt werden kann, daß das Virus als solches eine derartige Neigung besäße, in der Haut oder Schleimhaut der Versuchstiere oder des Menschen sich anzusiedeln und einen lokalen Prozeß hervorzurufen. Die Affinität zum Cornealepithel besteht ja wohl in hohem Maße, aber hier werden wohl noch weitere Untersuchungen zeigen müssen, ob nicht vielleicht doch die Nervenstämmchen in der Cornea als Eintrittspforten in Betracht kommen. Die bestehende Neurotropie ist ja allgemein anerkannt und besonders von Levaditi hervorgehoben worden, der allerdings so weit geht, 2 Typen des Virus, ein epithelio- und ein neurotropes, zu unterscheiden, eine Auffassung, der wir uns nicht angeschlossen haben.

Machen wir uns die Vorstellung zu eigen, daß es sich beim Herpes um eine primäre nervöse Lokalisation des Herpesvirus handelt, dann wäre die Herpesblase selbst nur als Ausdruck dieser primären nervösen Erkrankung anzusprechen. Die klinisch festgelegten Unterschiede in der Art der Effloreszenzen und im Verlaufe bei Herpes simplex und bei Herpes zoster könnten ja dann durch die Lokalisation des in diesem Falle gleichen Virus in verschiedenen Abschnitten des Nervensystems, Rückenmark, Ganglien, peripherer Nerv, Endverzweigungen ihre Erklärung finden.

Diese Ueberlegung hat natürlich nur für jene Fälle Geltung, welche wir, wenn der Ausdruck gestattet ist, als herpetische Zosteren bezeichnen würden. Denn es ist ja, wenn unsere Ueberlegung richtig ist, wohl anzunehmen, daß ein Herpesvirus unter Umständen einen Herpes zoster erzeugen kann; es soll aber keineswegs gesagt sein, daß wir für den Herpes zoster einheitlich das Herpesvirus verantwortlich machen wollen. Man müßte sich vielmehr vorstellen, daß es Zosteren gleicher Erscheinungsform, aber verschiedenster Genese gibt, eine Annahme, wofür die Beziehungen zwischen Herpes zoster und Varizellen ein Beispiel geben,

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

eine Annahme, die sich ja mit den Anschauungen vieler Autoren deckt (Barabas, Mayerhofer, Pignot).

Unseren Ausführungen entsprechend, glauben wir, daß vom ätiologischen Gesichtspunkte aus folgende Einteilung der Zosteren gegeben ist, wobei wir uns des hypothetischen Charakters dieses Schemas bewußt sind, aber doch meinen, daß dasselbe heuristischen Wert besitzt:

1) Symptomatischer Herpes zoster. In dieser Gruppe wären alle jene Fälle zusammenzufassen, bei welchen, wie schon der Name sagt, die Krankheit des betreffenden Segmentes (Rückenmarkssegment, Spinalganglion, peripherer Nerv) das Symptom der Grundkrankheit darstellt. Bei dieser Form des Zosters können wir 2 Untergruppen unterscheiden:

a) Symptomatischer Zoster auf infektiöser Grundlage (z. B. Varicellen, Febris herpetica, Encephalitis), wo es sich um eine sekundäre Lokalisation des betreffenden Virus im entsprechenden Anteil des Nervensystems handelt.

b) Symptomatischer Zoster auf nichtinfektiöser Grundlage (z. B Blutungen im Bereiche des entsprechenden Segmentes, im Gefolge anderer Erkrankungen, Tumormetastasen, eventuelle sekundäre Degenerationen und nicht spezifische infiltrative Prozesse im Nervensystem, Kompression eines Segmentanteiles, Intoxikationen, wie Arsen, vielleicht auch nur funktionelle Reizungszustände des Nervensystems, reflektorische Vorgänge). Bei dieser Gruppe muß aber ausdrücklich hervorgehoben werden, daß es keineswegs ausgeschlossen, nach klinischen und experimentellen Erfahrungen sogar wahrscheinlich ist, daß es sich hier wenigstens in vielen Fällen um eine Aktivierung eines latenten Virus handeln könnte.

2) Idiopathischer Herpes zoster. Hierher wären die Fälle zu rechnen, bei welchen das entsprechende Segment primär und ausschließlich affiziert erscheint, wobei wohl die Möglichkeit einer sekundären Generalisation im Falle des belebten Virus in Erwägung zu ziehen ist. Hierher würden u. a., abgesehen von Fällen traumatischen Zosters, z. B. bei isolierter Blutung im Spinalganglion, die Fälle gehören, bei welchen das supponierte, bisher nicht erwiesene spezifische Zostervirus, oder aber irgendein anderer Krankheitserreger, z. B. der des Herpes febrilis, der Varicellen u. a., sich primär und isoliert an irgendeinem Abschnitte des betreffenden Segmentes lokalisieren.

Die Einteilung der Zosteren von klinischen Gesichtspunkten aus in solche mit bzw. ohne Allgemeinerscheinungen (Fieber, Drüsenschwellungen) dürfte sich mit der versuchten ätiologischen Klassifizierung nicht vollständig decken. Es ist klar, daß sowohl Fälle der Gruppe 2 als auch solche der Gruppe 1a mit analogen klinischen Erscheinungen einhergehen können. Aufgabe weiterer klinischer und experimenteller Untersuchungen, die uns weiter beschäftigen sollen, wird es sein, die beiden Gesichtspunkte in Einklang zu bringen, um das Rätsel des Herpes zoster einer Lösung näherzubringen.

Literatur.

Arnstein, W., Arch. f. inn. Med. Bd. 4. 1922. — Barabas, Centralbl. f. Kinderheilkunde. Bd. 56. H. 4/5. — Baum, Derm. W. 70. 1920. — Blaschko, Mrazek, Handb. d. Hautkrankh. S. 677. — Curschmann u. Eisenlohr, Dtsch. Arch. f. kl. Med. Bd. 34. 1884. S. 405. — Claude und Schaffer, ref. Arch. f. Derm. 112. 1912. S. 98. — Dubler, Virch. Arch. Bd. 96. 1884. S. 195. — Da Fano, Journ. of Path. and Bact. Vol. 36. 1923; Journ. Phys. Vol. 54. 22./1. 1921; Brit. Med. Journ.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

22./10. 1921 u. 29./1. 1921. — Fontana, Pathologica 1921. p. 321 u. 406; 1922. p. 15; Minerva med. 1922. — Friedenwald, Arch. of Ophth. Bd. 52. 1923. Nr. 21. — Fröhlich u. Grosser, Dtsch. Zeitschr. f. Nervenheilk. Bd. 23. S. 441. — Gaviatti, Pathologica 14. p. 324. 392. — Gerhardt, Arch. f. Derm. Bd. 16. 1884. S. 347. — Gilbert, Klin. Mbl. f. Aug. 1920. 65. S. 399. — Gringolo, zit. bei Fontana. — Grüter, Kl. Mbl. f. Aug. 1920. S. 398. — Head and Campbell, Brain, XXIII. S. 353. — Hirsch, Nothnagel. Hdb. III/1. — Hunt, Neur. Zbl. 1908. S. 514. — Kreibich, Die angioneurotischen Entzündungen. Wien 1905. — Levaditi, Harvier et Nicolau, Ann. Past. 36. 1922. p. 63, 105. — Lipschütz, Wien. med. W. 1921. S. 232; Wien. Klin. W. Bd. 38. 1920. S. 836; Derm. W. 1921. S. 798, 983; Arch f. Derm. u. Syph. 1921. S. 428. — Löwenstein, Münch. Med. W. 1919; Dtsch. med. W. 1923. 17, 18; Kl. Mbl. f. Augenh. 1920. S. 15 u. 399. — Luger u. Lauda, Wien. Kl. W. 1921. 12 u. 21; Ztschr. f. Hyg. 1921. S. 206; Ztschr. f. ges. exper. Med. Bd. 24. 1921. S. 289; Wien. med. W. 1921. Nr. 19; Sitzungsber. d. Ges. f. inn. Med. u. Kinderh. 1923. — Luger, Lauda, Silberstern, Ztschr. f. Hyg. 94. H. 2/3. — Mariani, Policlinio. 29. 27. 1193. — Marinescu u. Dragenescu, Ann. Past. 1923. — Mayerhofer, Wien. med. W. 24. 1106. 1923. — Pignot, Bull. med. 1923. p. 205. — Sallmann, Sitzungsber. d. Ophth. Ges. Wien. 14./3. 1921; der Ges. d. Aerzte in Wien 13./5. 1921. — Stocker, Kl. Mbl. f. Augenh. 65. 1920. S. 298. — Teissier, Gastinel et Reilly, Compt. Rend. Soc. Biol. 86. 1922. p. 73—75. — Thibierge, zit. bei Pignot. — Truffi, Cbl. f. Neur. Ref. 1923. 31. 5/6. — Wohlwill, Derm. W. 1917. 64. 569. — Zumbusch, Arch. f. Derm. 1914. 118, 823.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Fleckfieberätiologie.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg (Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von **T. Abe** (aus Tokio).

Die Forschung über die Aetiologie des Fleckfiebers hat im Laufe der Jahre eine sehr umfangreiche Literatur hervorgebracht. Jedoch ist das Gesamtergebnis aller dieser Arbeiten verhältnismäßig gering. Auch heute noch herrschen nach wie vor 3 Ansichten über die Natur des Erregers, der von einer Seite zu den Protozoen gerechnet wird, von anderen zu den Bakterien und von einer 3. Reihe von Forschern zu der Gruppe der ultravisiblen Erreger. Eine Reihe von Autoren hat sich allmählich von der seinerzeit von Nicolle begründeten Anschauung von der ultravisiblen Natur des Erregers abgewandt. Außerordentlich zahlreich angestellte Forschungen, um den Erreger des Fleckfiebers in dem Gewebe, im Blute und in den Exkreten der Kranken oder der Versuchstiere nachzuweisen, haben bisher kein völlig einwandfreies Ergebnis gebracht.

Das Jahr 1916 brachte durch die Arbeiten von Rocha-Lima einerseits, sowie Weil und Felix andererseits in zweierlei Richtung Neues in die Fleckfieberforschung. Rocha-Lima wies auf kleinste charakteristische Gebilde in den Fleckfieberläusen hin, die sogenannten Rickettsia Prowazeki, die vor ihm bereits schon von Ricketts und anderen beschrieben, jedoch ziemlich unbeachtet geblieben waren. Nach Rocha-Lima stellt sich die Rickettsia Prowazeki bei Giemsa-Färbung als Diploform oder als kurzes Stäbchen mit Polfärbung dar. Man findet sie nur in Läusen, die bei Fleckfieberkranken oder experimentell infizierten Versuchstieren während des Fieberstadiums

Blut gesaugt haben. Auf Grund bestimmter Eigentümlichkeiten läßt sich die Rickettsia Prowazeki von anderen ähnlichen Formen, die zuweilen in normalen Läusen gefunden werden, z. B. Rickettsia pediculi, unterscheiden, besonders dadurch, daß sich die R. Prowazeki innerhalb der Epithelzellen des Magendarmkanals der Laus findet, ferner spielen färberische Eigentümlichkeiten bei der Differentialdiagnose eine Rolle. Mittels Läusen, die Rickettsia Prowazeki enthalten, können bei Meerschweinchen ähnliche Krankheitsbilder hervorgerufen werden wie mit anderem, von fleckfieberkranken Tieren und Menschen stammendem Material. Die Beobachtungen und Angaben Rocha-Limas wurden im Laufe der Jahre von Toepfer, Otto und Dietrich, Wolbach und mehreren anderen Autoren bestätigt, auf deren Angaben hin man so viel sagen kann, daß die Rickettsia Prowazeki in enger Beziehung zu der Aetiologie des Fleckfiebers steht. Immerhin war es nicht möglich, bisher mit Sicherheit die R. Prowazeki als Erreger der Krankheit anzusprechen. Der Grund liegt 1) darin, daß es bisher noch nicht gelang, die R. Prowazeki in den Geweben oder Flüssigkeiten von Kranken sowie Versuchstieren histologisch nachzuweisen, 2) war man bisher hinsichtlich des Verhaltens der Weil-Felixschen Reaktion zu der R. Prowazeki noch im unklaren. Die mannigfachen Gebilde, die Prowazek, Zettnow und Otto, Bessau, Kuczynski und Jaffé, Wolbach und Tood u. a. im Menschenmaterial gefunden haben, können nicht ohne weiteres als R. Prowazeki angesprochen werden. Die Läuse, die den Kranken oder den Fleckfiebertieren angesetzt wurden, gestatten in einem hohen Prozentsatz der Fälle in ihnen den Nachweis der R. Prowazeki. Wenn R. Prowazeki in ihrer charakteristischen Gestalt durch das Blut in die Laus eingeführt wäre, so müßte wenigstens ein einziges Exemplar der R. Prowazeki in dem von der Laus ursprünglich aufgenommenen Blute sich befinden. Nach Sikora beträgt die Blutmenge, die eine Laus bei einmaligem Saugen aufnimmt, etwa 0,3 mg. Demnach müßten mehrere hundert Rickettsien in einem Ausstrichpräparate von Fleckfieberblut gefunden werden. Ich selbst habe mit möglichster Sorgfalt etwa 30 Fälle von Fleckfiebermeerschweinchen, ferner mehrere Fälle von menschlichem Fleckfieber, die ich der Güte von Herrn Prof. Rocha-Lima verdanke, hinsichtlich des Vorhandenseins von R. Prowazeki in Blutpräparaten untersucht. Ich habe keinerlei Rickettsien gefunden, nur in einem einzigen Falle fand ich in einer weißen Blutzelle ein Gebilde, das einem der Prowazekschen Leukozyteneinschlüsse ähnelte. Ich habe zu dieser Zeit mich damit beschäftigt, zu untersuchen, ob das Bauchhöhlenexsudat von Fleckfiebermeerschweinchen, das man 5—6 Std. nach der Injektion einer sterilen Bouillon in die Bauchhöhle erhalten kann, fleckfiebervirushaltig ist, und konnte bestätigen, daß es genau so wie das Blut und und Gehirn Virus enthält. Ich habe dabei gleichzeitig Ausstrichpräparate des Bauchhöhlenexsudats angefertigt, konnte aber in ihnen ebensowenig wie im Blute Rickettsien-ähnliche Gebilde nachweisen.

Es war naheliegend, daran zu denken, daß es sich bei R. Prowazeki um eine Zyklusform des Erregers im Läusekörper handelte, oder daß nur Degenerationsprodukte der Magendarmepithelien infolge der Einwirkungen des unbekannten Fleckfiebererregers vorlagen. Auch die Züchtung der R. Prowazeki, die bisher einwandfrei noch nicht gelungen ist, wäre zu fordern. Nöller weist darauf hin, daß R. melophagi (Nöller) und R. pediculi (Sikora) gezüchtet werden konnten,

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

und hält dies für einen Gegenbeweis gegen die Annahme eines bloßen Degenerationsproduktes. Immerhin ist es nicht möglich, mit Sicherheit eine nahe Verwandtschaft von R. Prowazeki und den übrigen Rickettsien zu beweisen. Ich habe mich unter Mitwirkung von Frl. Sikora bemüht, nach ihren Vorschriften R. pediculi und R. melophagi zu züchten, es ist mir jedoch nie gelungen. Die Schwierigkeit, bzw. die Unmöglichkeit der Züchtung von R. melophagi und R. pediculi trägt naturgemäß dazu bei, den Nöllerschen Beweis noch mehr zu entkräften. Dennoch stehe auch ich persönlich auf dem Standpunkte, daß es sich bei R. Prowazeki nicht um ein Degenerationsprodukt handelt, und zwar aus Gründen, die ich aus den Beziehungen zwischen R. Prowazeki und Weil-Felixscher Reaktion ableiten konnte.

Otto und Dietrich haben in einer Laus, die am 4. Tage nach dem Ansetzen getötet wurde, lange, fädige Formen gesehen, in einer anderen Laus, die 9 Tage lang an demselben Kranken gesogen hatte, fanden sie bipolare und ovale Formen. Sie vermuten einen Uebergang der 2. Form aus der 1. Sie haben R. Prowazeki als eine Entwicklungsform eines anderen Mikroorganismus angesprochen. Was die Natur der R. Prowazeki anbelangt, so schreiben sie: „.... zwar kein Protozoon, aber auch kein gewöhnlicher Spaltpilz". Epstein hält R. Prowazeki für ein Protozoon- bzw. Chlamydozoon-ähnliches Gebilde.

Ich habe in den Läusen, die 7—18 Tage lang nach 1maligem Saugen an Fleckfiebermeerschweinchen von Frl. Sikora mit ihrem eigenen Blute gefüttert wurden, beinahe stets nur kurze Bipolar- bzw. Stäbchenformen beobachtet, aber niemals lange Fädenformen. Dabei machte ich eine interessante Feststellung: Bei den künstlichen Infektionsversuchen zeigte R. Prowazeki, der mit dem Rickettsienmaterial in den Magen geimpften Läuse die gewöhnliche kurze Form, bei 2 Läusen dagegen, die in das Cölom gespritzt worden waren, fanden sich beinahe ausschließlich etwa 2—4-fach längere, ausgezogene Bipolarformen und Fäden.

Es ist bis jetzt noch nicht sicher festgestellt, in welcher Gestalt die R. Prowazeki im Körper des kranken Menschen und des Tieres vorkommt. Klarheit vermochten auch die neueren Versuche von Schnabel nicht zu bringen, dem es gelang, durch Injektionen von Fleckfieberblut und Gehirn in die Läuse bei ihnen R. Prowazeki zu erzeugen.

In demselben Jahre, in dem durch Rocha-Lima die allgemeine Aufmerksamkeit auf die in den Fleckfieberläusen befindlichen Rickettsien gelenkt wurde, erwarben sich Weil und Felix durch die Herauszüchtung des Bazillus X 19 in anderer Richtung großes Verdienst um die Erforschung des Fleckfiebers. Nach kurzer Zeit allerdings wurde von zahlreichen Autoren (Dietrich, Starkenstein, Kolle und Schloßberger, Weil u. a.) darauf hingewiesen, daß es sich bei X 19 nicht um den Erreger des Fleckfiebers handeln könnte. Dennoch erregte X 19 dadurch, daß er durch Fleckfieberkrankenserum bis zu 100 Proz. agglutiniert wird und dadurch ein höchst wichtiges diagnostisches Hilfsmittel darstellt, die größte Aufmerksamkeit (Sucek, Felix, Jakobitz, Epstein und Morawitz, König und Bruns u. a.). Durch den Umstand, daß in der Art der Agglutination zwischen Krankenserum und dem Serum von mit X 19 immunisierten Kaninchen Unterschiede in der Form der Agglutination und der Hitzebeständigkeit der Antikörper sich feststellen ließen, wurde die Frage zu einem Spezialthema der Serologie.

Ueber das Wesen der X 19-Agglutination durch das Serum von

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Fleckfieberkranken wurden verschiedene Theorien aufgestellt. Zunächst entstand die Paragglutinationstheorie, vertreten hauptsächlich von Dietrich, Otto, Otto und Dietrich, Starkenstein, Oettinger, Kuhn, Loewenhardt u. a. Nach Wolff wird der gewöhnliche Proteus vulgaris durch die Symbiose mit dem Fleckfiebererreger in seiner inneren Struktur verändert, indem er den Biotypus im Sinne Oettingers bildet, wodurch er dann gegen Fleckfieberserum reagiert. Gestützt wurde diese Ansicht, weil man bei Fleckfieber nicht nur den Stamm X 19, sondern auch den gewöhnlichen Proteus findet. Gegen diese Paragglutinationstheorie wird von Weil und Felix, Hamburger und Bauch, Felix, Friedberger, Schiff, Schiff und Nartorff eingewendet, daß 1) X 19 auch bei anderen Kranken und sogar gesunden Menschen gefunden wird, und 2) die Agglutinabilität von X 19 durch Fleckfieberserum bei weiteren Ueberimpfungen auf künstliche Nährböden gar nicht beeinflußt wird. Nach diesen Autoren ist X 19 als selbständiger Bakterienstamm anzusehen und ist nicht der durch den Fleckfiebererreger in seinen Eigenschaften veränderte gewöhnliche Proteus. Alle Versuche, die ausgeführt wurden, um die vermuteten Eigenschaftsveränderungen des X 19 durch den hypothetischen Fleckfiebererreger künstlich zu erzielen, waren vergeblich (Braun, Braun und Salmon, Braun und Schaeffer, Salus u. a.).

Die 2. Theorie nimmt eine Polyagglutination an (Rocha-Lima, Violle u. a.). Diese Ansicht stützt sich darauf, daß das Serum von Fleckfieberkranken nicht nur X 19, sondern zuweilen auch andere Bakterien, wie beispielsweise Typhus-, Ruhr-, Coli-, gewöhnliche Proteus-Bakterien gleichzeitig agglutiniert. Die Richtigkeit dieser Theorie ist durch die ausführlichen Versuche von Weil, Felix u. a. sehr in Frage gestellt.

Weiterhin kommt die physikalisch-chemische Theorie, die annimmt, daß der hypothetische Flecktyphuserreger das Krankenserum physikalisch-chemisch so verändert, daß es X 19 agglutiniert (Weltmann, Elias, Mautner, Epstein, Epstein und Morawitz u. a.). Nach Weil und Felix ist diese Theorie haltlos, da die Reaktion nach ihnen von den spezifischen Bakterien verursacht wird und das Auftreten und Verschwinden der Agglutinine streng den Gesetzen der spezifischen Antikörper folgen. Andere Autoren (Hamburger und Bauch, Della Vida) haben durch ihre Versuche die verschiedenen spezifischen Charaktere des X 19-Agglutinins nachgewiesen. Das Agglutinin haftet gerade so wie die anderen Antikörper bei Fällung des Serums durch Ammoniumsulfat am Pseudoglobulinteil, ferner wird es durch Bariumsulfat adsorbiert. Heutzutage wird allgemein die Spezifität der Reaktion und des X 19-Bazillus angenommen.

Zuletzt kommt die Mischinfektionstheorie (Kolle und Schlossberger, Wilson u. a.). Gegen diese Theorie wendet Friedberger ein, daß es merkwürdig sei, daß eine Mischinfektion mit X 19 nur beim Fleckfieber vorkomme, bei anderen Krankheiten jedoch nicht, obgleich X 19 als harmloser Bewohner des menschlichen Körpers aufgefaßt werden muß.

Dabei ist zu berücksichtigen, daß auch bei anderen Krankheiten und bei Gesunden die Weil-Felixsche Reaktion positiv ausfallen kann. Es erhebt sich die Frage, ob es sich beim Fleckfieber allein um eine Mischinfektion handeln kann, da im Gegensatz zu anderen Krankheiten beim Fleckfieber die Weil-Felixsche Reaktion bis zu 100 Proz. positiv

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ausfällt. Man muß sich fragen, ob es unbedingt nötig ist, daß der Bazillus X 19 beim Fleckfieber in den Blutkreislauf gelangt, um eine positive Reaktion zu erzeugen.

Nachdem es Weil und Felix gelungen war, aus den Stämmen X 19 und X 2 die O- und die H-Form zu trennen, trat die Forschung über die Beziehungen der Weil-Felixschen Reaktion und dem Stamm X 19 in ein neues Stadium ein. Es ließ sich feststellen, daß OX-Kaninchenserum den Stamm OX kleinkörnig, dagegen den Stamm HX feinflockig agglutiniert, ganz entsprechend wie es beim Krankenserum der Fall ist.

Ferner gelang es Weil und Felix, dadurch Agglutinine gegen OX zu erzeugen, daß sie Kaninchen mit Meerschweinchenvirusgehirn immunisierten, danach stellten Weil und Gruschka dieselben Versuche mit Kaninchenvirusgehirn an; auch Kraus und de la Barrera konnten bestätigen, daß das Serum von Kaninchen, die mit Fleckfiebergehirn immunisiert wurden, Präzipitine gegen OX-Extrakt hat.

Die eigentümlichen Beziehungen des OX zum Fleckfieber versuchte Friedberger dadurch klarzustellen, daß er Bindungsversuche mit OX machte und, auf sie gestützt, den Stamm als echten Fleckfiebererreger erklärte. Seit dieser Zeit waren dieser Autor und seine Schüler fortgesetzt bemüht, diese Behauptung durch weitere Versuche und Erklärungen zu stützen. Friedberger und Schiff wollen, im Gegensatz zu allen anderen Forschern, eine Immunität der Meerschweinchen gegen OX durch Vorbehandlung der Tiere mit Fleckfieberpassagevirus erzielt haben. Ferner bewies Friedberger, daß Krankenserum und OX-Kaninchenimmunserum-Agglutinin dieselben Eigenschaften Hitze gegenüber haben. Friedberger und Schröder ferner wollen im Gehirn der Meerschweinchen, die zuvor mit OX behandelt waren, dieselben anatomischen Veränderungen wie im Fleckfiebergehirn gefunden haben. Dadurch, daß sie bestätigten, daß Krankenserum, OX-Kaninchenimmunserum und Meerschweinchenvirus-Kaninchenimmunserum völlig übereinstimmende Eigenschaften gegen X 19 haben, versuchten auch Büchner und Zorn die Behauptung Friedbergers zu stützen. Trotz aller dieser Versuche und Beobachtungen bleibt die Tatsache unverändert bestehen, daß man durch Infektion mit X 19 kein fleckfieberartiges Krankheitsbild bei Menschen und Tieren erzeugen kann.

Wir sind oben bereits auf die schwierige Frage der Beziehungen zwischen Fleckfieber, Rickettsia Prowazeki und OX eingegangen. Ueber die Beziehungen der Rickettsia Prowazeki zum Fleckfieber gaben Rocha-Lima und Epstein ausführliche Darlegungen. Daß Fleckfiebervirus im Kaninchenkörper spezifische Antikörper gegen OX erzeugt, daß Fleckfiebervirus-Kaninchenserum, Krankenserum und OX-Kaninchenserum bei der Weil-Felixschen Reaktion die gleichen Eigenschaften gegenüber Hitze zeigen, daß ferner die Agglutinationsprodukte denselben Flockungstypus zeigen, haben, wie oben bereits erörtert, Weil und Gruschka, Friedberger, Buchner und Zorn u. a. bestätigt.

Ueber die Beziehungen der R. Prowazeki zu der Weil-Felixschen Reaktion bzw. dem Proteus OX sind bisher sehr wenig Versuche ausgeführt. Dienes will aus der Fleckfieberlaus X 19 gezüchtet haben.

Was die Bakterien, die Kuczynski auf seinen besonderen Nährböden gezüchtet hat, anbelangt, so schreibt er in Virch. Arch. Bd. 242. 1923. H. 3, daß sie gezüchtete Rickettsia Prowazeki seien und

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kulturell, formal wie serologisch dem Proteus X 19 sehr nahe stehen. Seine Behauptung, daß es sich wirklich um R. Prowazeki handele, scheint in der Hauptsache darauf zu beruhen, daß seine Bakterien den von Wolbach u. a. in Läusen beobachteten kapselhaltig scheinenden Fädenformen der Rickettsien ähneln (S. 373—377, 392). Mit der Technik, die ich persönlich bei Herrn Prof. Kuczynski in der Charité zu lernen Gelegenheit hatte, ist es mir selbst nach mehrmaliger Wiederholung nicht gelungen, auf seinen Nährböden, für deren freundliche Ueberlassung ich ihm besonders dankbar bin, weder aus Fleckfiebermeerschweinchengehirn noch aus Rickettsienläusen die R. Prowazeki herauszuzüchten. Zu meinem großen Bedauern ist es mir nicht gelungen, von Prof. Kuczynski Kulturen seiner Bakterien zu erhalten, um damit entscheidende Läuseexperimente anstellen zu können. Meine gesamte Erfahrung bestärkt mich in der Vermutung, daß bei den Züchtungserfolgen von Kuczynski es sich nicht um Rickettsia Prowazeki handelte.

Ueber mit R. Prowazeki angestellte serologische Untersuchungen findet sich wenig in der Literatur. Otto und Dietrich injizierten Kaninchen intravenös 1—4 rickettsienhaltige Fleckfieberläuse mit einem Intervall von 3—5 Tagen. 10 Tage nach der letzten Injektion wurde das Kaninchen entblutet; es fand sich, daß das Serum bis zu einer Verdünnung 1:200 R. Prowazeki, aber nicht die auch in den Läusen befindlichen Kokken agglutinieren konnte. Das Serum von Kaninchen, die mit X 19, Plotzschen Bazillen, Fürthschen Bazillen immunisiert waren, agglutinierten niemals die Rickettsien; hingegen zeigt sich eine deutliche Agglutination der R. Prowazeki durch das Serum von Fleckfieberkranken.

In der Literatur finden sich bisher über das Verhalten des Antirickettsienkaninchenserums zu OX kaum irgendwelche Angaben. Otto und Dietrich geben in ihrer Tabelle bei 1:50 die Angabe $\pm$; sie äußern sich jedoch nicht über den Befund. Zu der Zeit, als Otto und Dietrich ihren Versuch anstellten, hatten Weil und Felix die Trennung in OX und HX noch nicht vorgenommen. Der alte gemischte Stamm von X 19 besteht aber nach Weil und Felix hauptsächlich aus HX. Infolgedessen sagt der Versuch von Otto und Dietrich so gut wie nichts über das Verhalten des Rickettsienimmunserums gegen den Proteus OX aus.

Ich selbst aber habe mich gerade damit beschäftigt, die Beziehungen zwischen R. Prowazeki und Weil-Felixscher Reaktion festzustellen, um Hinweise auf die Erregernatur der R. Prowazeki zu erhalten. Zu diesem Zwecke habe ich folgenden Versuch ausgeführt:

Versuchsanordnung: Immunisierung des Kaninchens mit R. Prowazeki: Man sterilisiert die Laus, in deren Kotausstrich reichlich Rickettsien nachgewiesen sind, durch Einbringen in folgende Lösungen: 30-proz. Alkohol mit 1-proz. Sublimat (ca. 5 Min.) — 30-proz. Alkohol (1 Min.) — Lugolsche Lösung (1—2 Min.), — 30-proz. Alkohol (1 Min.), — 2-proz. Natriumthiosulfatlösung (1 Min.) — 2maliges Wässern in sterilem Wasser. Danach Trocknen der Laus auf sterilem Löschpapier (dabei fängt die Laus wieder an zu kriechen). Danach wird der Leibesinhalt der Laus mit kleinen Impfnadeln herausgezogen, zwischen 2 Objektträgern verrieben und schließlich mit etwa 3 ccm Kochsalzlösung emulgiert. Die so hergestellte Emulsion wird einem Kaninchen in die Ohrvene injiziert. Für eine 1-malige Injektion benutzte ich, da mir nur

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine beschränkte Anzahl rickettsienhaltiger Läuse zur Verfügung stand, stets nur 1 Laus. 12 Tage nach der 3. und letzten Injektion — sie wurden mit 5-täg. Intervallen ausgeführt — wurde das Kaninchen entblutet.

Dem Kaninchen wurden etwa 2 Mon. vorher 2mal je 1 normales Meerschweinchengehirn intraperitoneal injiziert, um das Verhalten des Forssmanschen Antikörpers gegen OX festzustellen. Ergebnis siehe folgende Tabelle.

Tabelle I.

		Verdünnung	5	10	20	30	40	60	80	120	160	240	Kont.
inaktive Sera (56° C 30 Min.)	Hämolyse	3-proz. Hammelblut 1 ccm Komplement 0,1 ccm	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	stark	gar nicht
	Agglutination	OX	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		HX	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
aktive Sera	Agglutination	OX	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		HX	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, erhält das Serum des zuvor mit normalem Meerschweinchengehirn immunisierten Kaninchens den Forssmanschen Antikörper, d. h. ein heterogenes Hämolysin gegen Hammelblut, dagegen enthält es keine Agglutinine für OX oder HX weder im aktiven noch im inaktiven Zustande. Demnach hat der Weil-Felixsche Antikörper mit dem Forssmanschen gar nichts zu tun.

Als Kontrolle wurden Antinormalläuse-Kaninchenserum und das Serum von Frl. Sikora aus dem Tropeninstitut benutzt. Frl. Sikora machte vor 2 Jahren eine Fleckfiebererkrankung durch, nachdem sie sich bei der Arbeit mit Fleckfieberläusen infiziert hatte. Sie hat sich danach nicht mehr mit Arbeiten über Fleckfieber beschäftigt. Bei meinen jetzigen Versuchen ließ sie täglich 2mal die Läuse an sich saugen. Ihr Agglutinationstiter vor Beginn ihrer Läusefütterung (am 11. Juni 1923) war gegen OX 1 : 120, gegen HX dagegen 0.

Tabelle II.

OX-Agglutination.

	Verdünnung	5	10	20	30	40	60	80	120	160	240	Kont.
Serum unerhitzt	Rickettsienserum	+++	+++	++	++	+	+	+	±	—	—	—
	Sikora-Serum	++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	±	—
	Läuseserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Aus der Tab. II ist zu entnehmen: unerhitztes Antirickettsien-Kaninchenserum agglutiniert den lebenden Bazillus OX bis zu einer Verdünnung von 1 : 80—1 : 120. Das Serum von Frl. Sikora 1 : 160 bis 1 : 240. Antinormalläuse-Kaninchenserum agglutiniert OX überhaupt nicht. Die deutliche Steigerung des Agglutinationstiters von Frl. Sikora mag auf die Fleckfieberläusefütterung zurückzuführen sein. Es erscheint höchst wahrscheinlich, daß der Fleckfiebererreger beim Blutsaugen aus den Läusen in den Körper übergeht.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.
HX-Agglutination (Bazillen unerhitzt).

	Verdünnung	5	10	20	30	40	60	80	120	160	240	Kont.
Serum unerhitzt	Rickettsienserum	(±)	(±)	(±)	(±)	—	—	—	—	—	—	—
	Sikora-Serum	(±)	(±)	(±)	(±)	—	(±)	—	—	—	—	—
	Läuseserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Keines der beiden Sera agglutinierte den Bazillus HX. Sogar die feine Flockung, die beim Krankenserum und OX-Immunserum beobachtet wird, ließ sich nicht mit Sicherheit feststellen, vielleicht liegt die Ursache in dem niedrigen Titer beider Sera.

Tabelle IV.
OX-Agglutination (Bazillen unerhitzt).

	Verdünnung	5	10	20	30	40	60	80	120	160	240	Kont.
Serum 56° 1 Std.	Rickettsienserum	+	+	±	±	±	—	—	—	—	—	—
	Sikora-Serum	+	+	±	±	±	—	—	—	—	—	—
	Läuseserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tab. IV zeigt, daß bei dem Erhitzen des Serums auf 56° C während 1 Std. der größte Teil der Agglutinine gegen OX der beiden ersten Sera zerstört wurde. Es ist also das im Antirickettsien-Kaninchenserum vorhandene Agglutinin gegen OX gerade so thermolabil wie das von Frl. Sikora.

Tabelle V.
OX-Agglutination (Bazillen 56° C 30 Min.).

	Verdünnung	5	10	20	30	40	60	80	120	160	240	Kont.
Serum unerhitzt	Rickettsienserum	++	+++	+	+	+	+	+	±	—	—	—
	Sikora-Serum	++	++	++	+	+	+	+	±	±	—	—
	Läuseserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tab. V zeigt, daß die 30 Min. lang auf 56° C erhitzten Bazillen bei der Agglutination mit dem 1. und 2. Serum nicht so deutlich beeinflußt sind.

Tabelle VI.
OX-Agglutination (Bazillen 100° C 10 Min.)

	Verdünnung	5	10	20	30	40	60	80	120	160	240	Kont.
Serum unerhitzt	Rickettsienserum	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sikora-Serum	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Läuseserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Aus der Tab. VI geht hervor, daß die Agglutinabilität des Proteus OX durch Antirickettsien-Kaninchenserum und dem Serum von Frl. Sikora durch 10 Min. dauerndes Erhitzen auf 100° C erheblich herabgesetzt wird.

Die soeben erwähnten Versuche lassen erkennen, daß sich das durch rickettsienhaltige Läuse erzeugte Kaninchenimmunserum gegen OX im Sinne der Weil-Felixschen Reaktion gerade so verhält wie das Serum von Frl. Sikora.

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Zu meinem Bedauern standen mir keine Fleckfieberkranke zur Verfügung, deshalb konnte ich nicht eine Nachprüfung mit Krankenserum vornehmen. Immerhin erscheint es mir höchst wahrscheinlich, daß man daß Serum von Frl. Sikora als Krankenserum ansehen kann. Wenn auch eine positive Weil-Felixsche Reaktion mehrmals bei Kranken ohne Fleckfieber und sogar bei Gesunden festgestellt wurde — mag sie auch vielleicht durch Normalagglutinine, die man noch nicht von den Immunagglutininen mit Sicherheit unterscheiden kann, bewirkt werden, — so übersteigt in diesen Fällen der Titer nicht 1:50. Frl. Sikora erkrankte, wie oben bereits erwähnt, vor 2 Jahren an Fleckfieber, ihr Agglutinationstiter betrug vor dem Versuch schon 1:120. Er stieg außerdem innerhalb der 2 Mon., während sie die Fleckfieberläuse an sich fütterte, auf 1:160—1:240. Ihr Serum zeigt gegen OX ganz das entsprechende Verhalten wie das der Kranken.

Der Antikörper gegen OX im Serum von Frl. Sikora ist demnach von der gleichen Natur wie der im Krankenserum.

Demnach ist das agglutinatorische Verhalten des Antirickettsienläuse-Kaninchenserums gegen OX das gleiche wie das des Krankenserums.

Es erhebt sich dann die weitere Frage, auf welchem Bestandteil die Rickettsienläuse dieser Antikörper im Antirickettsienläuse-Kaninchenchenserum zu beziehen ist. Etwa auf Bestandteile des Läusekörpers? Kontrollserum, das durch normale Läuse im Kaninchen erzeugt wurde, ergab ein negatives Resultat. Vielleicht ist der Antikörper zu beziehen auf die hypothetischen unbekannten Erreger, die nach Gläubiger immer mit den Rickettsien zusammen gefunden werden? — sie müssen freilich immer an die Rickettsien gebunden sein, weil rickettsienfreie Läuse, auch wenn sie einmal an Fleckfieberkrankenblut gesaugt haben, nicht infektiös sind.

Bei der Verbindung des hypothetischen Fleckfiebererregers mit den Rickettsien sind zwei Möglichkeiten denkbar. Nimmt man an, daß die Rickettsia Prowazeki durch einen durch den Erreger ausgeübten Reiz erst in den Epithelzellen des Magendarmkanals der Läuse entsteht, so wäre sie ein Zellprodukt. Dagegen spricht ihr Aussehen, ihre Färbbarkeit, ferner auch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Kalilauge, Essigsäure, Saponin u. a. Durch alle diese Eigenschaften charakterisiert sie sich als Mikroorganismus. Nimmt man aber an, daß der hypothetische Erreger ausschließlich nur in Verbindung mit den rickettsienförmigen Gebilden vorkommt, nie allein, so kann man, da der hypothetische Erreger unsichtbar ist, bis auf weiteres ruhig die Rickettsia Prowazeki als Erreger anerkennen. Zeigt sich doch in der Wissenschaft, daß man berechtigt ist, auch ganz neuartige Dinge anzunehmen, insofern widersprechende Tatsachen nicht vorliegen.

Von dem eben erörterten Standpunkte aus zögere ich nicht, anzunehmen, daß Rickettsia Prowazeki durch die Immunisierung des Kaninchens mit den Rickettsienläusen Agglutinin gegen OX erzeugte.

Folglich hat Rickettsia Prowazeki gemeinsame Rezeptoren mit dem Proteus OX.

Werfen wir nochmals einen Blick auf das Wesen der Weil-Felixschen Reaktion. Es steht fest, daß die Weil-Felixsche Reaktion bei Fleckfieberkranken in beinahe 100 Proz. positiv ausfällt, bei anderen Kranken oder Gesunden in viel geringerem Prozentsatze. Nimmt man als Ursache dieser Erscheinung eine Mischinfektion an, so müßte der Proteus X 19 aus Fleckfieberkranken stets in einem höheren Prozent-

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

satze der Fälle als aus gesunden Personen oder anderen Kranken gezüchtet werden können. Dagegen spricht, daß Hamburger und Bauch in 30 Fällen von Fleckfieber kein einziges Mal aus dem Blute X 19 züchten konnten. Felix stellte in Kleinasien bei 215 Fleckfieberfällen 419mal Blutuntersuchungen an, auch ihm gelang es nicht, dabei X 19 zu züchten. Als Grund nimmt Felix eine bakterizide Kraft des Blutes an. Zu dieser Ansicht paßt die Tatsache nicht, daß der Proteus X19 andererseits von mehreren Autoren aus dem Blute von anderen Kranken oder Gesunden gezüchtet wurde.

Ferner, wenn es sich wirklich um Mischinfektionen von X 19 handelte, so müßte äußerlich die Krankenserumagglutination mit der X 19-Immunserumagglutination übereinstimmen. Der Typus der Flockung ist aber ganz verschieden; das Serum von Fleckfieberkranken agglutiniert fein, X 19-Immunserum dagegen grobflockig. Auch verhalten sich die Rezeptoren und das Agglutinin bei beiden Reaktionen verschieden gegen Hitze.

Daß ferner das Krankheitsbild der X 19-Infektion beim Menschen ganz verschieden ist von dem des Fleckfiebers, kann man aus dem Selbstversuch von Bauch deutlich erkennen (Hamburger und Bauch, Dtsch. med. Wochenschr. 1917).

Diese oben erwähnten 3 Tatsachen sprechen genügend gegen die Annahme der Erregernatur des Proteus X 19 beim Fleckfieber und gegen die Mischinfektionstheorie.

Nach der Angabe von Hamburger und Bauch hat der Erreger des Fleckfiebers zufällig mit dem Proteus X 19 gemeinsame Rezeptoren. Daß die Weil-Felixsche Reaktion bei Fleckfieberkranken in 100 Proz. positiv ausfällt, obgleich es nur selten gelingt, X 19 herauszuzüchten, beruht darauf, daß R. Prowazeki und Proteus OX gemeinsame Rezeptoren haben.

Was die positive Weil-Felixsche Reaktion mit niedrigem Titer angeht, die zuweilen auch bei Nichtfleckfieberkranken beobachtet wird, so kann man das Phänomen mit der Normalagglutination vergleichen, wie sie bei verschiedenen Darmbakterien beobachtet wird.

Ueber die Gestalt bzw. Vorstufe der R. Prowazeki im Krankenkörper wird die zukünftige Forschung Klarheit schaffen müssen.

Frl. Sikora bin ich für die Bereitwilligkeit zu den Versuchen und ihre Unterstützung zu großem Danke verpflichtet.

Zusammenfassung.

1) Das Bauchhöhlenexsudat, das vom Fleckfiebermeerschweinchen während des Fieberstsdiums 5—6 Std. nach der Injektion seriler Bouillon gewonnen ist, enthält Virus genau wie das Blut und Gehirn.

2) Bei 2 Läusen, die künstlich mit dem Rickettsienmaterial in das Cölom gespritzt worden waren, fanden sich 9 Tage nach der Behandlung fast ausschließlich etwa 2—4-fach längere, gegeneinander gezogene Bipolarformen uud Fäden.

3) Auf den Kuczynskischen Nährböden läßt sich die Rickettsia Prowazeki nicht züchten, weder aus Fleckfiebermeerschweinchengehirn noch aus Rickettsienläusen.

4) Die Weil-Felixsche Reaktion hat mit dem Forssmanschen Antikörper gar nichts zu tun.

5) Beim Blutsaugen der Fleckfieberläuse geht Virus von der Laus

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

in den Körper des Wirtes über, was bei der Läusefütterung, die von Frl. Sikora durchgeführt wurde, durch die Titersteigerung ihres Serums im Sinne der Weil-Felixschen Reaktion bestätigt worden ist.

6) Rickettsia Prowazeki läßt beim Kaninchen Agglutinine gegen OX erzeugen. Also haben Rickettsia Prowazeki und OX gemeinsame Rezeptoren. Diese Tatsache, gemeinsam mit den anderen Eigenschaften der Rickettsia Prowazeki, macht keine Schwierigkeit, anzunehmen, daß die Weil-Felixsche Reaktion beim Fleckfieber auf Rickettsia Prowazeki beruht.

Literaturverzeichnis.

1) Bessau, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 289. — 2) Braun, ebenda. 1919. Nr. 2. — 3) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1918. — 4) Braun und Salomon, Dtsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 3. — 5) Braun u. Schaeffer, Berl. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 18. — 6) Büchner u. Zorn, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 33. 1922. S. 115. — 7) Della Vida, Ann. de l'Inst. Past. T. 29. 1919. p. 847. — 8) Diener, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 461. — 9) Dietrich, ebenda. 1916. S. 1570. — 10) Elias, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 11. — 11) Epstein, Wien. med. Wochenschr. 1918. Nr. 36. — 12) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1922. S. 553. — 13) Epstein u. Morawitz, Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 13. — 14) Felix, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 26. 1917. S. 602. — 15) Ders., Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 11. — 16) Friedberger, Dtsch. med. Wochenschrift. 1919. Nr. 1. — 17) Ders., ebenda. 1919. Nr. 42—44. — Friedberger u. Schiff, Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 293. — 19) Ders. u. Schröder, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 31. 1921. S. 386. — 20) Hamburger u. Bauch, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1130 u. 1227. — 21) Jacobitz, Münch. med. Wochenschr. 1917. S. 1576. — 22) Kolle u. Schlossberger, Med. Klin. 1917. S. 263. — 23) König u. Bruns, Veröffentl. a. d. Geb. d. Med.-Verw. Bd. 8. 1918. S. 277. — 24) Kraus u. de la Berrera, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 34. 1922. S. 1. — 25) Kuczynski, Virch. Arch. Bd. 242. 1923. H. 3. — 26) Ders u. Jaffé, Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. 30. 1919. S. 193. — 27) Kuhn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. S. 107. — 28) Loewenhardt, ebenda. Bd. 84. 1920. S. 191. — 29) Mautner, Wien. med. Wochenschr. 1918. Nr. 9. — 30) Nöller, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1917. S. 53. — 31) Ders., Diskussion bei Berl. Gesellsch. f. Mikrobiol., den 13. Juni 1923. — 32) Nöller u. Kuchling, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1923. Nr. 18. — 33) Oettinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. S. 304. — 34) Otto, Med. Klin. 1916. Nr. 44. — 35) Ders., Dtsch. med. Wochenschr. 1918. S. 173. — 36) Ders., ebenda. 1919. Nr. 30. — 37) Otto u. Dietrich, ebenda. 1917. S. 577. — 38) Prowazek, Beitr. z. Klin. d. Infektionskr. u. z. Immunitätsforsch. Bd. 4. 1914. S. 1. — 39) Ricketts u. Wilder, Journ. Amer. med. Assoc. Vol. 54, 55. — 40) Rocha-Lima, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1916. S. 17. — 41) Ders., Berl. klin. Wochenschr. 1916. S. 567. — 42) Ders., Münch. med. Wochenschr. 1916. S. 1381. — 43) Ders., Berl. Klin. Jahrg. 29. 1919. S. 1. — 44) Ders., Ergebn. von Lubarsch-Ostertag, Jahrg. 19. 1919. Abt. 1. — 45) Ders., Handb. d. pathog. Protozoen. Bd. 2. — 46) Sachs, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 964. — 47) Salus, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. S. 196. — 48) Schnabel, Berl. Gesellsch. f. Mikrobiol., den 13. Juni 1923. — 49) Schiff, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 29. 1920. S. 11. — 50) Ders. u. Nathorff, ebenda. Orig. Bd. 30. 1920. S. 482. — 51) Sikora, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 25. 1921. S. 123. — 52) Starkenstein, Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 5. — 53) Ders., Med. Klin. 1917. Nr. 29. — 54) Sucek, Münch. med. Wochenschr. 1916. S. 1814. — 55) Toepfer, Dtsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1251. — 56) Violle, Compt. rend. Soc. d. Biol. 1920. p. 283 (zit.). — 57) Weil, Dtsch. med. Wochenschr. 1920. S. 343. — 58) Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 2. — 59) Dies., ebenda. 1917. S. 393. — 60) Dies., ebenda. 1917. S. 1509. — 61) Weil u. Gruschka, Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 33. 1922. S. 207. — 62) Weltmann, Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 19. — 63) Ders., ebenda. 1917. Nr. 13. — 64) Wilson, Journ. of Hyg. Vol. 19. 1920. p 115. — 65) Wohlbach et Tood, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 34. 1920. p. 153. — 66) Wolbach, Tood and Palfrey, The etiol. a. pathol. of typhus. (Harvard University Press. 1922.) — 67) Wolff, Berlin. klin. Wochenschr. 1920. S. 834. — 68) Zettnow u. Otto, in „Otto u. Dietrich“, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 577.

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber das d'Herellesche Phänomen.

IV. Mitteilung.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Bakteriologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamts.]

Von Prof. Dr. **E. Gildemeister** und Dr. **Kurt Herzberg.**

I.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Studium der d'Herelle-Lysine eine wesentliche Erleichterung erfahren würde, wenn es gelänge, sie rein darzustellen. Inwieweit dies erreichbar ist, hängt in erster Linie von der Natur der Lysine ab. Bestehen sie aus einer Substanz, die nur locker an das Bakterieneiweiß gebunden ist, so müßte ihre Reindarstellung möglich sein; sind sie dagegen Substanzen, die mit dem Bakterieneiweiß eng verkuppelt sind, oder bestehen sie aus zerfallenem Bakterieneiweiß, so wird ihre Darstellung nur mit diesem stattfinden können. In letzterem Falle würde es also genügen, die Bestandteile des Nährmediums, in dem die Lysine zur Vermehrung gebracht wurden, zu entfernen.

Wenn wir von den Versuchen absehen, die Olsen und Yasaki kürzlich über die Flüchtigkeit der d'Herelle-Lysine mitgeteilt haben, und die letzten Endes eine Reindarstellung der Lysine bedeuten würden [1]), so haben die bisher in dieser Richtung geführten, allerdings, so weit wir übersehen können, spärlichen Versuche noch kein befriedigendes Ergebnis gezeitigt. Kabeshima ist es gelungen, die Lysine aus ihrem Medium mittels Azeton oder Aetheralkohol auszufällen und dadurch eine Konzentrierung der Lysine zu erreichen. Mit den Lysinen werden aber bei diesem Vorgange gleichzeitig große Mengen organischer Substanzen des Nährmediums ausgefällt, so daß man stets komplexe Niederschläge erhält. de Necker hat nachgewiesen, daß Lysine durch kolloidale Metalle wie Cu, Ag, Rh, Se, J adsorbiert werden. Ganz besonders geeignet erwies sich für derartige Adsorptionsversuche das Aluminiumhydroxyd, das nicht nur die Lysine adsorbierte, sondern auch die adsorbierten Lysine wieder frei gab, wenn sie in ein Medium gebracht wurden, in dem sich das Aluminiumhydroxyd auflöst. Mit diesen Versuchen wollte de Necker zeigen, daß die Lysine durch den Adsorptionsvorgang nicht geschädigt werden und daß sie ähnlichen Gesetzen gehorchen wie Fermentlösungen. Eine Reinigung beabsichtigte er nicht. Da außerdem bei der Befreiung der Lysine aus dem Adsorbat durch Essigsäurezusatz auch das Adsorbens in Lösung geht, wird durch dieses Verfahren ein Vorteil in der von uns angestrebten Richtung nicht erzielt.

Unsere Versuche an Bakterienpreßsaft, über die wir in der letzten Mitteilung (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. S. 13) be-

1) Wir haben inzwischen nachgewiesen (Klin. Wochenschr. i. E.), daß die Lysine nicht destillierbar sind und nicht den Charakter flüchtiger Substanzen haben, die Destillation als Methode der Reindarstellung von Lysinen also nicht in Frage kommt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

richtet haben, waren mit in der Absicht unternommen worden, Lysinstudien in einem übersichtlicheren Medium vorzunehmen, als es eine Bakterienbouillonkultur darstellt. Da diese Untersuchungen aus äußeren Gründen vorübergehend unterbrochen werden mußten, haben wir inzwischen auf andere Weise versucht, dem Ziele, die d'Herelle-Lysine aus dem System Bouillon-Bakterien-Lysin zu isolieren, näher zu kommen.

Zu diesem Zwecke benutzten wir die Fähigkeit des lockeren Kieselgurs, Lysine zu adsorbieren, auf die schon von W. Seiffert hingewiesen worden ist. Als zweckmäßig erwies es sich bei unseren Versuchen, mit Bouillonverdünnungen zu arbeiten. Werden 10 ccm einer lysinhaltigen und im Verhältnis 1:100 verdünnten Bouillon mit 0,2 g geglühtem Kieselgur versetzt und im Erlenmeyer-Kolben ungefähr 3 Min. kräftig geschüttelt, so genügt diese Zeit, um das Lysin an den Kieselgur zu adsorbieren. Bemerkt sei, daß die Adsorption bei saurer Reaktion besonders ausgeprägt ist. Wird die Kieselgur-Lysinbouillon zentrifugiert, so läßt sich nachweisen, daß die Lysine aus der überstehenden Flüssigkeit völlig oder nahezu völlig verschwunden sind. Man kann alsdann auch den lysinbeladenen Kieselgur mehrfach waschen, ohne daß erhebliche Mengen des adsorbierten Lysins wieder frei gegeben werden. Setzt man jedoch zu dem Adsorbat etwa 10 ccm n/25—n/100 Ammoniak, schüttelt im Kölbchen ungefähr 10 Min. und zentrifugiert, dann enthält die Flüssigkeit wieder annähernd die gleiche Lysinmenge wie das Ausgangsmedium, d. h. durch den Zusatz des Ammoniakwassers sind die Lysine aus dem Kieselgur wieder in Freiheit gesetzt worden. Wir haben nunmehr die Lysine in einem leicht ammoniakalischen, mit Bouillon- und Bakterienbestandteilen wesentlich weniger durchsetzten Medium als in der Ausgangsflüssigkeit. Die Reinheit der Lysinlösung läßt sich noch weiter steigern, indem man durch geringes Ansäuern mit verdünnter Essigsäure bis zu einem p_H von etwa 6,0 das Lysin erneut an frischen Kieselgur adsorbiert und hierauf wieder mittels Ammoniak auswäscht. Ein gewisser Verlust an Lysinteilchen ist hierbei allerdings nicht zu vermeiden.

Aus den Arbeiten von R. Willstätter, Memmen und E. Waldschmidt-Leitz wissen wir, daß es durch wechselnde Auswahl von Adsorbentien und Medien gelingt, Pankreaslipase von einer bisher nicht gekannten Reinheit darzustellen. Diese schönen Erfolge der genannten Autoren ermutigen uns, unsere Versuche fortzusetzen, um die d'Herelle-Lysine durch Adsorption und Auswaschung von anhaftenden, nicht zugehörigen Bestandteilen noch mehr als bisher zu befreien und auf diese Weise ihren Reinheitsgrad weiter zu erhöhen.

II.

Unsere eingehenden Untersuchungen über das spontane Auftreten von Lysinen in Bakterienkulturen hatten gezeigt, daß die hierbei zu beobachtenden Lysinmengen zuweilen sehr gering sind. Diese Beobachtung legte den Gedanken nahe, daß vielleicht in manchen Kulturen Spontanlysine zwar vorhanden sind, aber in einer so geringen Menge, daß sie bei der Filtration durch Berkefeld-Filter im Filter zurückgehalten werden. Wir hielten es deshalb für angezeigt, systematische Untersuchungen in der Richtung anzustellen, ob bei der Zurückhaltung von Lysinen in Berkefeld-Kerzen Gesetzmäßigkeiten zu ermitteln sind. Die bekannten Unzulänglichkeiten unserer Filtrierapparate fordern

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

immer wieder dazu auf, die Schwächen für jeden Einzelfall nach Möglichkeit klar zu legen.

Es wurden 14 kleine Berkefeld-Kerzen (h = 6 cm, r = 1,5 cm) in mehrfachen Filtrationen mit je 2 Lysinen (einem Y-Ruhrlysin und einem Coli-Lysin) geprüft. Die Lysine gelangten einmal verdünnt, das andere Mal unverdünnt zur Filtration; die Feststellung des Verlustes an lytischen Teilchen durch den Filtrationsprozeß geschah nach der von uns beschriebenen Methode (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. S. 13.) in einer verbesserten Form, über die weiter unten das Nähere gesagt ist. Die Lysine hatten, mit dieser Technik gemessen, einen Titer von 10^{-5} (nach Appelmans und Werthemann von 10^{-7}). Filtriert wurden stets 20 ccm Lysinbouillon vom p_H 7,5 bei einem Vakuum von ca. 580 mm. Die Durchlaufzeit betrug etwa 5 Min., bei öfter gebrauchten Kerzen bis zu 15 Min. Die Reihenfolge wurde so gewählt, daß zuerst das mit Bouillon verdünnte Lysin und dann, nachdem Rückspülung und Sterilisierung der Kerze erfolgt war, das unverdünnte Lysin hindurchgeschickt wurde. Das konzentrierte Lysin wurde nach der Filtration entsprechend verdünnt wie das verdünnte vorher; beide Filtrate gelangten im Plattentropfversuch auf die Anzahl der lytischen Einzelteilchen zur Untersuchung. Sämtliche Kerzen waren für Bact. coli undurchlässig. Das Ergebnis gestaltete sich folgendermaßen.

Der Grad der Durchlässigkeit einer Berkefeld-Kerze für d'Herelle-Lysine ist in erster Linie abhängig von der Anzahl der Filtrationen, die mit der Kerze bereits vorgenommen worden sind. In den ersten Filtrationen passieren die Lysine die Kerze meist gut, während sie später sehr erheblich an Teilchenzahl einbüßen.

Beispiel: Eine verdünnte Lysinlösung, die in 0,05 ccm 13 Teilchen enthält, wird durch eine alte und eine neue Kerze filtriert. Im Filtrat der alten Kerze werden nur 1, in dem der neuen 12 Teilchen in 0,05 ccm wieder gefunden. Um den Gesamtverlust pro 0,05 ccm gegenüber der Kontrolle zu erhalten, sind die Zahlen mit 10^4 zu multiplizieren.

Ursächlich steht hier das mechanische Moment der Verstopfung im Vordergrunde entsprechend dem Resultat, das P. Schmidt bei der Filtration normaler Bakterienkulturen erheben konnte. Die Konzentration des Lysins spielt dagegen bei sonst gleich gehaltenen inneren und äußeren Bedingungen eine geringere Rolle. Konzentrierte Lösungen verlieren, durch alte Kerzen geschickt, bis zu $^3/_4$ und mehr des Gesamtgehaltes an Lysinen, während andererseits verdünnte Lysine, durch neue Kerzen filtriert, nur wenig, zuweilen überhaupt nicht verändert werden.

Beispiel: Eine neue Kerze hält aus einer verdünnten Lysinlösung von 60 Teilchen 2, eine alte Kerze aus einer konzentrierten Lysinlösung, die nach entsprechender Verdünnung in der Kontrolle 65 Teilchen in 0,05 ccm aufweist, dagegen 60 Teilchen zurück.

Dementsprechend können aber auch verdünnte Lysine in sehr häufig gebrauchten Kerzen alle Lysinteilchen zurücklassen.

Beispiel: Ein durch eine alte Kerze geschicktes verdünntes Lysin, das in 0,05 ccm 30 Teilchen hatte, war nach der Filtration lysinfrei.

Daß aber auch konzentrierte Lysinlösungen durch die Kerzenfiltration völlig lysinfrei werden können, ist bereits durch C. Prausnitz dargetan worden.

Durch die starke zahlenmäßige Abschwächung von Lysinen in alten Kerzen können andererseits schwächere, die Lysinzahl ebenfalls verringernde Einflüsse verdeckt werden. Sie sind daher an wenig benutzten,

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

nach Möglichkeit an neuen Kerzen aufzusuchen. Zu diesen lysinverringernden Einflüssen gehört die Adsorption. Sie steht, absolut gemessen, der mechanischen Zurückhaltung an Intensität durchaus nach, in sehr verblüffender Unterschiedlichkeit zu der starken Adsorptionsfähigkeit des lockeren, geglühten Kieselgurs gegenüber Lysinen. So ergab sich bei einigen neuen Kerzen, dem Adsorptionsgesetz entsprechend, daß von derselben Kerze aus verdünnten Lysinen relativ mehr Teilchen zurückgehalten wurden als aus konzentrierten, obwohl die Filtration des konzentrierten Lysins der des verdünnten nachfolgte, das mechanisch-verstopfende Moment bei der Filtration des konzentrierten Lysins also sicher größer war.

Beispiel: Verdünntes Lysin ergab vor der Filtration in 0,05 ccm 21 Teilchen, nach der Filtration durch eine neue Kerze 4 Teilchen; konzentriertes Lysin lieferte nach Filtration durch die gleiche Kerze 15 Teilchen.

Im Falle rein mechanischer Einflüsse hätten im letzteren Falle, also im konzentriert filtrierten Lysin, nur 4 oder weniger Teilchen nachweisbar sein dürfen. Bei zwei anderen Kerzen war das Verhältnis derart, daß das konzentrierte Lysin mit 50–60 Proz. Verlust durch das Filter ging, während die verdünnt filtrierten Lysine 75—90 Proz. verloren hatten. Prozentual kann also die adsorptive Wirkung die mechanisch versperrende übertreffen, sie erreicht indes, auf die Anzahl der Einzelteilchen berechnet, nie die Größe, die die Werte für die Verstopfung annehmen können. Es sei bemerkt, daß diese Adsorptionen nur bei unserem Coli-Lysin, nicht bei dem Y-Ruhrlysin beobachtet wurden. Dies änderte sich auch nicht, als Berkefeld-Kerzen mit bedeutend größerer Oberfläche (h = 10 cm, r = 2,5 cm) zur Anwendung kamen. Erst nach Aenderung der Wasserstoffzahl konnte auch das Y-Lysin zur Adsorption gebracht werden.

Beispiel: Durch dieselbe Kerze wurden unter konstanten äußeren Bedingungen drei Fraktionen derselben Lysinverdünnung (10^{-4} eines Lysins vom Plattentiter 10^{-5}) filtriert. Als Verdünnungsflüssigkeit diente diesmal Aqua redest., dem vorher die zur Erzielung der angegebenen Azidität bzw. Alkalität notwendige Menge von CH_3COOH oder NH_3 in $^1/_1$ Normallösung zugesetzt worden war. Zwischen den einzelnen Filtrationen erfolgte Rückspülung und Sterilisierung der Kerze. Die erste Verdünnung war n/200 essigsauer, die zweite n/50 ammoniakalisch[1]), die dritte etwa neutral (frisch ausgekochtes Aqua redest.). Die Flüssigkeiten enthielten vor der Filtration in je 0,05 ccm 27 Teilchen, im ammoniakalischen Filtrat 26 Teilchen und im neutralen 24 Teilchen.

Für das Coli-Lysin ergab sich unter den gleichen Bedingungen an 2 Kerzen folgendes: Die Flüssigkeit enthielt vor der Filtration in 0,05 ccm beide Male 170 Teilchen, in dem essigsauren Filtrat beide Male 0 Teilchen, in dem ammoniakalischen Filtrat 130—150 bzw. 55 Teilchen und in dem neutralen 80—90 bzw. 8 Teilchen. Nachfiltriertes (nicht adsorbierbares) Y-Lysin passierte ohne Verlust. Die Kerzen dürften also bei der dritten Filtration keine geringere Durchgängigkeit gehabt haben als bei der ersten, was auch angenommen werden konnte, da das durchgeschickte Medium sehr kolloidarm war, die Schnelligkeit der Verstopfung aber dem Gehalt an suspendierten Teilchen proportional ist.

Ein weiterer Faktor, der die Passage der Lysinteilchen durch die Kerze bestimmt, ist durch das Lysin selbst gegeben. Das Y-Ruhr-Lysin ging bedeutend leichter durch die Berkefeld-Kerze als das Coli-Lysin, was zum Teil auf Unterschiede in der Größe der Lysinteilchen zurückzuführen ist.

Beispiel: Y- und Coli-Lysin werden so verdünnt, daß sie in 0,05 ccm 30 Teilchen enthalten. Versuche an 3 Berkefeld-Kerzen. Die Coli-Lysinfiltrate

1) In den genannten Konzentrationen wurden die Lysine bei der hier benötigten Versuchsdauer nicht geschädigt.

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

enthalten 8 bzw. 3 und 12 Teilchen, die Y-Lysinfiltrate in derselben Kerzenreihenfolge 16 bzw. 12 und 26 Teilchen in 0,05 ccm.

Die Zurückhaltung des Coli-Lysins ist also — an derselben Kerze unmittelbar nacheinander gemessen — doppelt bis 4-fach so groß als die des Y-Lysins. Daß hierfür nicht allein die Adsorption verantwortlich gemacht werden kann, geht aus Filtrationsversuchen mit Seitz-Filtern hervor, die das Coli-Lysin nicht adsorptiv fesseln und es doch in geringerem Grade als das Y-Lysin passieren lassen.

Zusammenfassend kann somit gesagt werden, daß jede Berkefeld-Kerze als ein Typ für sich zu betrachten ist. Die Durchgängigkeit von d'Herelle-Lysinen durch Berkefeld-Filter bei konstantem Druck und konstantem Medium hängt ab

1) von der Anzahl der Filtrationen, die mit der betreffenden Kerze vorgenommen worden sind;

2) von der Fähigkeit des Lysins, adsorbiert zu werden oder nicht;

3) von der Größe der Lysinteilchen;

4) von der Wasserstoffzahl bei sonst gleichem Gehalt an organischen Bestandteilen und Salzen.

Praktisch ergibt sich hieraus, daß man mit dem geringsten Verlust an Lysinen bei der Berkefeld-Filtration rechnen kann, wenn

a) mit einer neuen Kerze,

b) in ammoniakalischem Medium (n/25—n/100 NH_3) filtriert wird.

Unberücksichtigt haben wir die Frage gelassen, wie bei Einhaltung dieser zwei optimalen Bedingungen ein Wechsel des Filtrationsdruckes und der Konzentration des Mediums an organischen Bestandteilen die Lysinfiltration beeinflußt. Von praktischer Bedeutung ist bei der Lysinfiltration auch nur der erste Faktor, da wohl mit einigermaßen gleichartiger Beschaffenheit unserer Kulturflüssigkeiten gerechnet werden darf.

Es wurde das Gebiet der Filtrationen nicht verlassen, ohne zahlenmäßige Grundlagen auch für Seitz-Filter zu suchen. Die äußeren und inneren Bedingungen waren die gleichen wie bei der Berkefeld-Filtration. Zu jeder Filtration wurden neue Filterscheiben verwendet, da auf Grund von Bakterienfiltrationen angenommen werden muß, daß öftere Erhitzung der Filterscheiben eine Vermehrung der Durchlässigkeit bewirken kann. Im Vergleich zu neuen Berkefeld-Kerzen ließen Seitz-Filter erheblich weniger Lysine durch. Während die Zurückhaltung in neuen Berkefeld-Kerzen beim Coli-Lysin bis zu 50 Proz., beim Y-Lysin meist 10 Proz. betragen hatte, hielten Seitz-Filter vom Coli-Lysin bis zu 90 und 100 Proz., vom Y-Lysin durchschnittlich 50—60 Proz. zurück.

Beispiel: Coli- und Y-Lysin werden konzentriert filtriert. Nach entsprechender Verdünnung enthält die unfiltrierte Kontrolle in 0,05 ccm zwischen 65 und 70 Teilchen, während das filtrierte Coli-Lysin nur 7, das filtrierte Y-Ruhrlysin 27 Teilchen aufweisen.

Es war bei diesen Versuchen gleichgültig, ob die Lysine konzentriert oder verdünnt filtriert wurden. In jedem Falle war die Anzahl der Lysinteilchen nach der Filtration (und der entsprechenden Verdünnung des konzentriert filtrierten Lysins) die gleiche.

Beispiel: Verdünnt und konzentriert filtriertes Coli-Lysin haben im Filtrat 9 bzw. 8, entsprechend filtriertes Y-Ruhrlysin 27 bzw. 30 Teichen in 0,05 ccm. Unfiltrierte Kontrollen zwischen 65 und 70.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Seitz-Filtration ergibt somit Uebereinstmmungen und Differenzen mit der Berkefeld-Filtration. Die Uebereinstimmung besteht darin, daß auch beim Seitz-Filter für die Zurückhaltung des Y-Ruhrlysins adsorptive Vorgänge nicht in Frage kommen. Die Differenzen sind nicht nur zahlenmäßig, sondern auch artverschieden. Entgegengesetzt zur Berkefeld-Filtration läßt sich beim Seitz-Filter auch für das Colilysin keine Gesetzmäßigkeit erkennen, die für Adsorption spräche. Sowohl für das Y-Ruhrlysin wie für das Colilysin kommen bei der Durchlaufsbehinderung nur mechanische Einflüsse in Frage. Die quantitativ verschiedene Beeinflussung des Y-Ruhrlysins und des Colilysins durch die Filtration im Seitz-Filter gestattet daher den Schluß, daß die Teilchengröße des Y Ruhrlysins geringer ist als die des Colilysins, was aus den Berkefeld-Filtrationen nicht mit der gleichen Sicherheit abgeleitet werden konnte. Praktisch ergibt sich daraus die Möglichkeit, für solche Filter, die nicht adsorptiv auf Lysin wirken, die Lysine als bequeme Indikatoren der Filterdichte für den Bereich unterhalb der Bakteriendurchlässigkeit anzuwenden. Mit de Haenschen Membranen haben wir bisher nur orientierende Versuchsreihen angestellt; da sie uneinheitliche Resultate ergaben, können aus ihnen noch keine Schlußfolgerungen gezogen werden.

III.

Die Bestimmung der lytischen Einzelteilchen in den Filtrationen des vorhergehenden Abschnittes erfolgte durchgängig nach der von uns beschriebenen Methode. Sie hat sich, verbessert durch zwei kleine Modifikationen, als durchaus zuverlässig erwiesen. Die Fehlermöglichkeiten sind nunmehr äußerst klein; die Werte einer Titration differieren nur um wenige Teilchen. Es ergaben sich z. B. für drei Lysine in je 0,05 ccm der Verdünnung 10^{-5} folgende Zahlen von Lysinteilchen: Lysin A weist in sechs 0,05 ccm-Tropfenspuren 13, 10, 10, 14, 13, 11 Löcher, Lysin B in vier Spuren 52, 57, 55, 62 Löcher, und Lysin C 26, 25, 24, 29, 26 Löcher in fünf Tropfenspuren auf. Oder: 0,5 ccm und 0,25 ccm eines konzentrierten Lysins werden auf die Verdünnungen 10^{-4} und 10^{-5} gebracht.

Die 0,5 ccm-Lösung enthält in 10^{-4} 112, in 10^{-5} 13 Teilchen,
„ 0,25 „ „ „ „ 10^{-4} 59, „ 10^{-5} 6 „

Da man nicht nur, wie bei der Methode von Appelmans und Werthemann, Unterschiede in Zehnerpotenzen erhält, sondern in einer bestimmten Zehnerverdünnung die Auszählung auf lytische Einzelteilchen vornimmt, so können auch Unterschiede von 15—20 Proz. festgestellt werden. Feine Unterschiede in dem Gehalt an Lysin, wie sie z. B. in unseren Adsorptionsversuchen auftraten, würden nicht aufgefunden werden können, wenn man auf die Plattentropfmethode verzichtete. Die Bestimmung der lytischen Einzelteilchen wird von uns jetzt in folgender Weise vorgenommen.

Anm. Es erscheint zweckmäßig, beim Suchen nach Lysinspuren, wie sie bei Spontanlysinen in Bakterienkulturen zu finden sind, die Seitz-Filtration auszuschalten. Bei Spontanlysinen ist auch die Berkefeld-Filtration nicht immer ratsam. Vorteilhaft erscheint uns für diesen Zweck die Anwendung der elektrischen Zentrifuge. Auf diese Weise gelang es kürzlich, bei einem sich bis dahin völlig lysinfrei zeigenden und auch in unserer 3. Mitteilung noch so gekennzeichneten Coli-Stamme in einer 16-stünd. Bouillonkultur Lysine nachzuweisen, während das Berkefeld-Filtrat lysinfrei war.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von einem Lysin mit unbekanntem Titer werden 0,05 ccm in einen Erlenmeyer-Kolben pipettiert und mit 49,5 ccm Verdünnungsmedium (Bouillon, Aqua dest.) versetzt. Nach vorsichtigem Durchmischen werden hieraus 0,5 ccm entnommen, in einen zweiten Erlenmeyer-Kolben gegeben und wieder auf 50 ccm verdünnt. Diese Konzentration — 10^{-4} — läßt sich in manchen Fällen bereits auszählen; zweckmäßig verdünnt man die Lösung aber noch auf 10^{-5} und 10^{-6}. Von den Konzentrationen 10^{-4} bis 10^{-6} wird je eine Platte nach der in unserer III. Mitteilung angegebenen und genau einzuhaltenden Methode (Plattentrocknung!) mit Tropfenspuren angelegt. Die Verdünnung, die sich gut auszählen läßt (am besten etwa 20—50 Teilchen pro 0,05 ccm, je nach dem Durchmesser der leeren Flecke), gelangt am nächsten Tage zur genauen Teilchenbestimmung. Kennt man den Grenzwert, so ist dieser Vorversuch unnötig. Es wird dann das Lysin bis zur gewünschten Konzentration in Erlenmeyer-Kölbchen verdünnt und in 9 Tropfenspuren zu je 0,05 ccm, drei auf jeder Platte, aus einer hundertteiligen 1 ccm-Pipette ausgewertet. Der Titer wird wie bisher auf 0,05 ccm berechnet (als Maßeinheit der Tropfenspur). Die Titration in 9 Tropfenspuren bietet einen genügend großen Sicherheitsfaktor für eine Durchschnittszahl, die Verdünnung im Erlenmeyer-Kolben ist der in Reagenzgläsern (Gefahr der Berührung der Glaswand durch die Pipetten mit dem konzentrierteren Lysin) vorzuziehen.

Aus der letzten Mitteilung von Doerr und Zdansky über Titrationen geht hervor, daß sie der Bouillonverdünnung den Vorzug geben. Wir stimmen mit ihnen darin überein, daß der Bouillon- und der Plattenversuch nebeneinander angewendet werden sollen, da die genannten Autoren nachgewiesen haben, daß in hohen Verdünnungen der Bouillonversuch noch Lysis ergibt, während im Plattentropfversuch keine leeren Flecke auftreten. Eine Ueberlegenheit der Bouillonmethode kann daraus allerdings nicht abgeleitet werden, da bei Austropfen der gleichen Flüssigkeitsmenge, die im Bouillonversuch zur Anwendung kam, im Plattenversuch Lysinmengen der selben Größenordnung erhalten werden. Man wird jedoch aus Sparsamkeitsrücksichten in diesen Fällen auf den Plattenversuch verzichten. Handelt es sich aber darum, Unterschiede aufzudecken, die kleiner sind als Zehnerpotenzen, dann kann dies nur mit der oben geschilderten Technik erreicht werden, falls man für die Bouillonverdünnungsmethode nicht andere Verdünnungsreihen anwendet.

Die Umrechnung des Plattentiters in den Bouillontiter ist einfach. Man multipliziere mit 10^2, wenn in der Gleichung

$$x = L \text{ mal } 0{,}18$$

x kleiner als 1, mit 10^3, wenn x größer als 1 ist.

L = der Anzahl der Einzelteilchen in derjenigen Konzentration, die in 0,05 ccm weniger als 10 Teilchen enthält. z. B. Plattentiter 10^{-5}, 3 Teilchen in 0,05, dann ist

$$x = 3 \text{ mal } 0{,}18,$$

da x kleiner als 1, ist der Bouillontiter $= 10^{-7}$; oder, Plattentiter 10^{-5}, 7 Teilchen in 0,05 ccm, dann ist

$$x = 7 \text{ mal } 0{,}18,$$

da x größer als 1, ist der Bouillontiter $= 10^{-8}$. Nur bei Werten dicht um 1 können Differenzen mit der Rechnung um ein Röhrchen auftreten.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Die Untersuchungen haben sich auf Adsorption, Filtration und Titration von d'Herelle-Lysinen erstreckt.

1) Es ist gelungen, Lysine durch Adsorption an Kieselgur und nachfolgende Auswaschung mit Ammoniak aus ihrem Kulturmedium zu isolieren.

2) Filtrationsstudien an Berkefeld-Kerzen ergaben, daß die Durchgängigkeit für Lysine bei konstantem Filtrationsdruck und konstantem Gehalt des Mediums an organischen Stoffen und Salzen abhängt

a) von dem Alter der Kerze,
b) von dem Grad der Adsorbierbarkeit des Lysins,
c) von der Wasserstoffzahl des Mediums,
d) von der Größe der Lysinteilchen.

3) Durch die mechanisch-versperrende Wirkung entstehen größere Lysinverluste als durch Adsorption.

4) Durch Erhöhung der Wasserstoff-Ionenkonzentration können in sonst gut durchlässigen Kerzen Lysine völlig zurückgehalten, durch Erhöhung der Hydroxyl-Ionenkonzentration schlecht passierende Lysine gut filtrierbar werden.

5) Die beste Titrationsausbeute wird bei Verwendung neuer Kerzen und Alkalisierung des Mediums erzielt.

6) Seitz-Filter ließen weniger Lysine durch als Berkefeld-Kerzen; sie wirkten nur mechanisch-sperrend, nicht adsorbierend.

7) Es werden Beschreibung und Belege für die von uns ausgearbeitete Titrationsmethode auf lytische Einzelteilchen, mit welcher die vorgenannten Befunde erhoben worden sind, mitgeteilt.

Literaturverzeichnis.

Doerr u. Zdansky, Ztschr. f. Hyg. Bd. 100. 1923. S. 79. — Gildemeister, E. u. Herzberg, Kurt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. S. 13. — Kabeshima, C. s. Soc. de Biol. I. 83. 1920. p. 219 et 471. — de Necker, Ibid. T. 87. 1922. p. 1247. — Olsen u. Yasaki, Klin. Wochenschr. 1923. S. 1879. — Prausnitz, C., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. — Schmidt, P., Ztschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 65. 1910. S. 423. — Seiffert, W., Med Kl. 1923. S. 835. — Willstätter, R., Memmen u. Waldschmidt-Leitz, E., Ztschr. f. Physiol. Bd. 125. 1923.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Jena (Leiter: Prof. Dr. Abel).]

Von Dr. **Fr. Reichert**, Assistenten des Instituts.

Ueber das von d'Herelle zuerst beschriebene Phänomen eines fortzüchtbaren ultravisiblen Agens, das die Auflösung von Bakterien bewirkt, ist schon eine umfangreiche Literatur entstanden. Trotz der vielen Untersuchungen besteht aber erst über wenige Eigentümlichkeiten dieses

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

seltsamen Körpers unter den Autoren Uebereinstimmung. Als feststehend kann heute angesehen werden seine Gewinnbarkeit aus Stuhl von Mensch und Tier, seine Filtrierbarkeit durch bakteriendichte Filter, seine Fähigkeit, empfindliche Bakterien aufzulösen oder im Wachstum zu hindern, und seine ultravisible Größe. Alle anderen Eigenschaften dieses Gebildes kann man, soweit darüber bisher berichtet wurde, als noch der Diskussion unterworfen bezeichnen; wenigstens ist hier eine Uebereinstimmung der Meinungen noch nicht zu verzeichnen. Ich zähle als hierher gehörig die wechselnde Empfindlichkeit des Agens gegen Temperatureinflüsse, die Wirkung von Chemikalien auf dasselbe, seine Adsorbierbarkeit an Tierkohle und andere Adsorbentien, seine Fähigkeit, als Antigen zu wirken, seine Unempfindlichkeit gegen Eintrocknung und anderes mehr. Dies alles harrt noch der Nachprüfung und Erweiterung. Hinsichtlich der wichtigsten Fragen aber d. h. hinsichtlich des Ursprungs des Virus, seiner Wesensart und seiner Wirkungsweise gehen die Meinungen noch vollkommen auseinander.

Diesen mithin noch recht schwankenden Boden, auf dem unsere Kenntnisse über das d'Herellesche Phänomen ruhen, weiter zu befestigen und durch Ermittlung neuer Tatsachen unsere Einblicke in diesen erstaunlichen Vorgang zu vertiefen, machten wir uns zur Aufgabe. Wir glaubten, hier nicht anders vorgehen zu können, als daß wir das Phänomen von Grund auf studierten, die eigenen Erfahrungen mit denen anderer verglichen und dann das, was wir bestätigen konnten oder neu fanden, kritisch zusammenzufassen.

Unsere erste Aufgabe war naturgemäß die Gewinnung eines Virus. Gestützt auf die zahlreichen Angaben der Literatur (d'Herelle, Otto u. a.) wurden Stühle von Menschen, die vor einiger Zeit eine Ruhr überstanden hatten — Kranke oder Rekonvaleszenten standen uns nicht zur Verfügung — stark mit Bouillon verdünnt, in diesem Zustande 24 Std. bei 37° aufbewahrt und schließlich die überstehende Flüssigkeit durch Berkefeld-Filter filtriert. Nach zahlreichen Fehlschlägen gelang auf diese Art die Gewinnung eines Filtrates, das eine dünne Bouillonaufschwemmung eines Kruse-Stammes (R. I) aufzuhellen imstande war. Mit diesem Lysat, Fla VII genannt, führten wir die ersten Versuche aus, bei denen es uns darauf ankam, die einzelnen Stadien des Lösungsvorganges zu untersuchen. Zu diesem Zwecke bedienten wir uns einer von Pfreimbter angegebenen Methodik, bei welcher die mit einer kleinen Menge Lysat versetzte dünne Bouillonemulsion wiederholt in Abständen von einigen Stunden auf Agarplatten abgeimpft wird. Der Tropfen Emulsion wurde von uns auf der angefeuchteten Platte mit dem Glasspatel sorgfältig verteilt und die Oberfläche der letzteren dann im Faust-Heimschen Apparat getrocknet. Die Abimpfung geschah stets vor Zusatz des Virus, dann sogleich danach, und ferner nach 3, 6, 8 und 24 Std.[1])

Der Ausfall der zahlreichen, auf diese Weise angestellten Versuche war ein sich mit weitgehender Uebereinstimmung wiederholender. Die sofort nach dem Lysatzusatz beimpfte Platte zeigte meist keinen Unterschied von einer solchen, die durch Abimpfung vor der Virusbeimengung (Kontrolle) gewonnen wurde. Beide waren meist mit einem dichten Bakterienrasen bewachsen. Nach 3-stünd. Aufenthalt des Gemisches im Brutschrank aber fanden sich mehr oder weniger große, unregelmäßig

1) Diesen Versuch nennen wir „periodischen Versuch".

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gestaltete, sterile Felder auf den Platten. Bei der Auftragung des Impfmaterials etwa auf das Zentrum derselben erstreckten sich die bakterienfreien Areale stets auch auf die mittleren Partien der Agarfläche. Die bewachsenen Stellen dagegen wiesen neben kreisrunden Kolonien von anscheinend normalem Aussehen zahlreiche Wuchsformen auf, die scharfe Einkerbungen besaßen, oder halbmondförmige Gestalt zeigten, oder sogar ein ganz bizarres Aussehen etwa wie eine Pseudopodien ausstreckende Amöbe oder wie ein unregelmäßig gestalteter Stern darboten. Manchmal fanden sich diese seltsamen Formen auch als ganz vereinzelte Exemplare mitten in einer sonst sterilen Fläche. Meist aber erschienen sie in der Grenzschicht zwischen sterilen Partien und bewachsenen Feldern. Diese eigenartigen Gebilde waren zweifellos die zuerst von Gildemeister beschriebenen Flatterformen, die von ihm und anderen Autoren bald nach Bekanntwerden des d'Herelleschen Phänomens mit diesem in Verbindung gebracht wurden. — In selteneren Fällen trat ein anderes Bild auf. Es entstanden keine sterilen Stellen, sondern nur unregelmäßig geformte Partien mit feinem, hauchförmig entwickeltem Rasen zwischen solchen Gebieten, die normalen, kräftigen Bakterienwuchs zeigten. — Eine 3. Erscheinungsform der Bakterienrasenbildung auf den Platten nach Abimpfung in der 3. Std., die wir als die seltenste Art bezeichnen müssen, war das Auftreten oft kaum stecknadelkopfgroßer Löcher in mehr weniger dichten Abständen, so daß der Rasen wie fein punktiert aussah. Wir führen das seltene Auftreten des gelöcherten Rasens im Vergleich mit den beiden anderen eben genannten Formen darauf zurück, daß das Virus beim Kontakt mit dem Agar von diesem schnell adsorbiert wird, wodurch seine gleichmäßige Verteilung verhindert wird. Nur in wenigen Fällen gelingt eine gute Ausbreitung mit dem Spatel, so daß dann der durchlöcherte Rasen entsteht.

Dieses Bild wird von d'Herelle als das typische beschrieben. Er leitet daraus weitgehende Schlüsse ab, indem er argumentiert, daß jedes Loch einer Viruskolonie entspreche, und daß man aus der Zahl der Löcher die Zahl der Viruskeime bestimmen könne. Er will auf diese Art regelmäßig die Stärke seiner Lysate feststellen. Wir haben dagegen einzuwenden, daß 1) das „Lochbild" außerordentlich selten ist, so daß man nie mit seinem Entstehen rechnen kann und außerdem, daß keinerlei Beweis dafür vorliegt, daß solch ein kleines Loch nun wirklich jeweils nur einer Viruseinheit entspricht. Es können dort ebensogut nur eine Einheit und in einem anderen, dessen Größe vom ersten in gar nicht feststellbarer Weise abweicht, mehrere vorhanden sein. Wir können daher der Anwendung der genannten Methode als Meßverfahren für die Zahl der Viruseinheiten nicht zustimmen, ganz besonders dann nicht, wenn damit nicht nur eine ungefähre Schätzung sondern eine genaue zahlenmäßige Feststellung vorgenommen werden soll. — Nach 6 Std. Brutschrankaufenthalt des Bakterienemulsionslysatgemisches blieb die Platte nach der Beimpfung meist vollkommen steril oder zeigte nur ganz vereinzelte Kolonien teils von normalem Aussehen (Normalformen) teils Flatterformen. Nach 8 Std. setzte meistens schon eine Vermehrung der Kolonienzahl ein. Die Art der Wuchsformen bestand von jetzt an aber stets nur noch in Normalformen. — Nach Ablauf von 24 Std. war nach Abimpfung stets wieder ein dichter Rasen auf der Platte zu gewinnen. Die Bouillonemulsion wechselte während der ganzen Prüfungszeit ihre Trübung derart, daß sie sich nach 5–6 Std. ziemlich plötzlich aufhellte, um dann

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei zunehmender Trübung am nächsten Tage das Aussehen einer dicht bewachsenen Bouillonkultur zu zeigen.

Diese Befunde lassen sich so zusammenfassen: Nach 2—3-stünd. Wirkung des Lysates nimmt die Zahl der vermehrungsfähigen Keime ab, während die aus den scheinbar unversehrten Bakterien entstehenden Kolonien sich teils als Normalformen teils als Flatterformen präsentieren. Nach etwa 6—8 Std. tritt bei starker, ziemlich plötzlicher Aufhellung der Bouillon eine scheinbare Sterilität ein, der kräftiges Wachstum der wenigen überlebenden Bakterien folgt. Die nach dem Stadium der scheinbaren Sterilität auftretenden Kolonienformen sind stets Normalformen. — Durch Filtration der wiederbewachsenen Bouillon ließ sich das Virus von neuem isolieren und zeigte die gleichen Eigenschaften. (Unter Virus verstehen wir ein das d'Herellesche Agens enthaltendes Filtrat. Meist ist es eine Bouillon, welche durch Filtration einer Bakterienbouillonkultur, in der eine Lysis ablief, gewonnen wurde. Wir werden als Synonyme mit Virus auch die Bezeichnungen Filtrat und Lysat anwenden.) — Später untersuchten wir mit der gleichen Versuchsanordnung ein gegen Coli hochwirksames Lysat (U. 15. 9.) und erhielten dabei dieselben Ergebnisse, wie eben beschrieben.

Dieser merkwürdige Vorgang umschließt mithin zwei eng miteinander verbundene aber deutlich trennbare Teilvorgänge. Einmal beobachten wir ein Absinken und Wiederansteigen der Zahl der vermehrungsfähigen Keime verbunden mit einer Aufhellung der Bouillon, und dann das Auftreten verschiedener Formen von Kolonien derart, daß beim Absinken der vermehrungsfähigen Keimzahl normale und Flatterformen hervorbrechen, beim Ansteigen aber lediglich Normalformen.

Es galt daher zunächst, den komplizierteren dieser beiden Teilvorgänge d. h. die Bildung der verschiedenen Kolonienformen näher zu erforschen. Bei der zweifellosen Bedingtheit der Entstehung dieses Wechsels der Wuchsformen durch die Wirkung und durch die Vermehrung des Virus stellten wir uns folgende Fragen: 1) Welche Kolonienformen tragen das Virus? 2) Welche Kolonienformen sind frei von Virus? 3) Welche Wuchsformen sind resistent gegen den Einfluß des Virus? Eine Resistenz mußte mindestens bei einigen Keimen vorliegen und damit auch wahrscheinlich bei den aus ihnen hervorbrechenden Kolonien, weil sonst ein Neubewachsen nach scheinbarer Sterilität nicht möglich wäre.

Am verdächtigsten auf enge Beziehungen zum Virus schienen die Flatterformen. Ihr Gehalt an wirksamem Agens wurde derart geprüft, daß sie auf Bouillon verimpft wurden. Als Resultat davon konnte teilweise ein völliges Klarbleiben der Bouillon teilweise eine dichte Trübung derselben infolge reichen Bakterienwachstums festgestellt werden. Ob das eine oder andere eintrat, war nie vorauszusehen. Beide Bouillonarten — bewachsene und unbewachsene — enthielten aber in allen Fällen Virus, wodurch man sich durch Filtration leicht überzeugen konnte.

Die Probe zur Feststellung auf Virusgehalt wurde entsprechend den Angaben von d'Herelle so ausgeführt, daß auf eine mit dem empfindlichen Stamme aufs Gleichmäßigste besäte Platte[1]) an 3 ver-

1) Wir verteilten stets einen Tropfen einer dünnen Kochsalzlösungsemulsion des betreffenden Stammes mit dem Glasspatel auf der angefeuchteten Agarplatte aufs Genaueste und trockneten die Platte dann im Faust-Heimschen Apparat.

Generated on 2019-09-15 11:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

schiedenen Stellen je 1 Oese des Filtrates aufgetupft wurde. Große sterile Felder entsprechend dem Verlauf des Tropfens oder kleinere Aussparungen im Bakterienrasen oder hauchförmiges Wachstum desselben dokumentierten dann die Wirksamkeit des Lysates (wir nennen dies Verfahren Plattenverfahren). Die eben besprochenen Resultate lehren aber nicht nur, daß die Flatterformen in allen Fällen Virussträger sind, sie zeigen auch, daß diese Wuchsformen 2 Arten von Keimen enthalten, nämlich resistente und empfindliche. Daß ein großer Teil der verimpften Bakterien empfindlich war, beweist das Sterilbleiben eines Teiles der Bouillonröhrchen, während die Resistenz des anderen Teiles der Keime aus ihrem Wachstum bei Gegenwart des Virus hervorgeht.

Die Beschäftigung mit diesen eigenartigen Kolonien, wie wir sie in den Flatterformen vor uns haben, drängte die Frage nach ihrer Entstehungsweise auf. Hier schien folgende Beobachtung einen Fingerzeig zu geben: Impft man eine Flatterform auf eine Agarplatte derart, daß man das Material zunächst auf das Zentrum der Platte aufträgt, um es dann mit der Oese nach der Peripherie zu verteilen, so entsteht stets folgendes Bild: Die zentralen Partien der Platte bleiben unbewachsen, dann beobachtet man eine mittlere Zone mit wenigen Flatterformen, während die Randpartien der Agarfläche mehr oder weniger dicht mit Flatterformen und Normalformen besetzt sind. Die Stärke des Bakterienwachstums verhält sich also genau umgekehrt wie die Dichte der Aussaat, die zweifellos in den mittleren Plattenteilen größer ist als in der Gegend des Randes. Was besagt diese Tatsache? Berücksichtigen wir, daß mit der Dichte der Bakterienaussaat wahrscheinlich die Dichte der Lysataussaat annähernd parallel geht, da sie beide durch denselben mechanischen Vorgang von derselben Stelle aus durch das Streichen mit der Platinöse verteilt werden, so müssen auch die Lysatteilchen auf den zentralen Plattenpartien am dichtesten liegen und ebenso zwischen ihnen die Bakterien. Diese Anhäufung des Lysates aber ist es, die das Auskeimen der Bakterien selbst bei gleichzeitig dichter Lagerung verhindert. Je mehr wir uns nun dem Rande der Platte nähern, desto dünner wird die Aussaat beider Komponenten und desto weiter liegen sie voneinander entfernt. Die Bakterien können mithin zunächst unbehindert auskeimen und die Kolonien bilden. Diese stoßen wahrscheinlich aber bald an Virusteilchen an und vermögen sich dann an dieser Stelle nicht weiter zu vermehren. Es entsteht eine Einkerbung am Rande der Kolonie. Je öfter nun solche Berührungen einer Kolonie mit Lysatteilchen erfolgen, desto vielgestaltiger wird ihre Form; es entsteht die typische Flatterform. Damit wird auch ersichtlich, wie so die Flatterform stets Virusträger ist. — Gestützt wird diese Ansicht durch die schon vorher erwähnte Beobachtung, daß die Flatterformen im periodischen Versuche nach Pfreimbter ausschließlich auf den sonst unbewachsenen Stellen der Platte oder in den Grenzgebieten zwischen steriler Fläche und normalem Bakterienrasen auftreten. Hier wie dort führen die räumlichen Beziehungen der Bakterien zum Virus mit Anwachsen des Keimes zur Kolonie zu einer Berührung, die zwischen den noch nicht vermehrten Keimen und dem Virus vorher möglicherweise nicht statthatte. Oder, grenzt ein dichter Bakterienrasen an eine durch Viruswirkung sterile Plattenpartie, so ist die Grenze entweder vollkommen scharf, oder der Rasen greift in vielgestaltigen Sprossen, Zapfen und Zacken gegen den keimfreien Bezirk vor, so daß er wie der Rand einer riesigen Flatterform aussieht. Der Rasen wächst

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

naturgemäß an allen den Stellen vor, wo kein Virus liegt, und bleibt dort zurück, wo er das Agens berührt. — Eine analoge Auffassung über den Ursprung der Flatterformen äußert Seiffert. Er hält damit die Flatterform für das sicherste Zeichen für das Vorhandensein eines d'Herelleschen Virus. Dieser Schlußforderung können wir uns aber auf Grund einiger merkwürdiger Befunde nur mit Vorbehalt anschließen. Wir sahen nämlich mehrere Male Agarplatten, auf welche Stuhlproben aufgestrichen waren, die typische Flatterformen von Typhus oder Coli, einmal sogar in sehr großer Zahl, aufwiesen. Trotzdem war es nicht möglich, aus diesen Flatterformen oder aus den betreffenden Stuhlproben ein irgendwie wirksames Lysat zu gewinnen. Wir möchten daher annehmen, daß die Flatterformen auch noch durch andere Ursachen, als durch ein d'Herellesches Virus entstehen können, oder daß es den Flatterformen ähnliche Kolonien gibt, die wir aber heute morphologisch von den echten, beim d'Herelle-Phänomen auftretenden Flatterformen noch nicht zu trennen imstande sind.

Nach der Feststellung der Flatterformen als obligater Virusträger war es nicht wahrscheinlich, daß die gleichzeitig mit ihnen sich bildende Normalform d. h. die Normalformen, die vor dem Stadium der scheinbaren Sterilität wachsen, auch virushaltig sind. Eine in dieser Richtung angestellte Probe aber nötigte dazu, diese Annahme aufzugeben. Ueberträgt man nämlich eine derartige Normalform auf eine Agarplatte und verteilt das Impfmaterial sorgfältig mit dem Spatel, wobei es etwa in solcher Dichte ausgestrichen wird, daß ein dichter Rasen aufgehen müßte, so bleibt die Platte in den meisten Fällen vollkommen steril, und in einigen anderen Fällen entstehen wenige sehr kleine Kolonien. Dementsprechend bleibt ein mit einer solchen Normalform beschicktes Bouillonröhrchen klar und keimfrei. Wird eine nach der 1. Beimpfung unbewachsen gebliebene Agarplatte erneut mit dem empfindlichen Stamm beschickt, so bleibt sie entweder wieder steril, oder es entstehen wenige unscheinbare Kolonien. Daraus ergibt sich mit Notwendigkeit, daß die Normalformen der 1. Phase des periodischen Versuches im hohen Maße mit Virus behaftet sind, und daß sie scheinbar nur wenige resistente Keime enthalten. — Wir stehen hier vor dem überraschenden Ergebnis, daß einmal die Gegenwart des Virus zu keinerlei Aenderung der Wuchsform geführt hat (Normalform der 1. Phase), während das Agens ein anderes Mal d. h. bei der Flatterform die Ursache zum bizarrsten Wachstum wird. Es muß also ein fundamentaler Unterschied in der Beziehung zwischen Bakterium und Virus im einen und anderen Fall vorliegen. Wir möchten uns den Vorgang bei der Entstehung der virushaltigen Normalform in folgender Weise verständlich machen: Ein Bakterium ist schon virusbehaftet ausgesät, doch ist sein Virusgehalt nicht so groß, daß seine Teilung und damit seine Vermehrung aufgehoben ist. Die Auskeimung des Stäbchens und mit ihr die Kolonienbildung setzt ein, während sich gleichzeitig das Virus vermehrt. Das Wachstumstempo der Bakterien ist aber anfangs größer als das des Virus, so daß stets virusfreie Individuen in ausreichender Zahl zur weiteren Vermehrung vorhanden sind. Sobald sich die Kolonie aber ihrer normalen Größe nähert, nimmt die Vermehrungsgeschwindigkeit der Keime allmählich ab, denn ein plötzliches ruckweises Stillstehen des Bakterienwachstums kommt sicher nicht in Betracht. Das Virus aber entwickelt sich progressiv stärker, so daß seine absolute und relative Menge, verglichen mit der Bakterienzahl am Schluß der ganzen Entwicklung, erheblich größer ist

als beim Beginn derselben. Der Endzustand eines solchen Vorganges kann nun eine äußerlich vollkommen normale, aber im stärksten Maße mit Virus durchsetzte Kolonie sein, d. h. die Normalform der 1. Phase des periodischen Versuches, wie wir sie immer beobachten. — Der Unterschied der virushaltigen Normalform und der Flatterform liegt also darin, daß die Normalform von einem mit wirksamem Agens beladenen Keim ausgeht, während die Flatterform von einem virusfreien Bakterium abstammt, dessen Nachkommen erst beim Anwachsen zur Kolonie mit einem wirksamen Bestandteil des Lysates in Berührung kommen.

Wir kommen jetzt zur Besprechung der Normalform, welche nach der scheinbar sterilen Phase auftritt. Schon die Tatsache, daß sich diese Kolonienart nach stärkster Entwicklung des Agens und nach Vernichtung aller übrigen Keime herausbildet, beweist ihre Festigkeit gegen das Virus. Der Beweis läßt sich aber auch leicht durch ein anderes Experiment erbringen oder erhärten. Stellt man mit einer Kultur, die von einer nach dem sterilen Stadium gewachsenen Normalform abstammt, einen periodischen Versuch an, so zeigt sich die völlige Wirkungslosigkeit des Virus dieser Bakterienart gegenüber. Es entsteht bei allen Abimpfungen ein in jeder Richtung normaler kräftiger Bakterienrasen. Auch durch einen Plattenversuch kann man leicht die Unwirksamkeit des Virus diesen Keimen gegenüber erweisen. Hier sieht man trotz Verwendung unverdünnten Lysates nie auch nur die geringsten Defekte im Rasen. Die Virusfestigkeit haftet aber nicht nur der 1. Generation an. Sie scheint unbegrenzt vererbbar zu sein. Denn Stämme, welche mehr als 20mal überimpft waren, zeigten sie im gleichen Maße wie die Ausgangskolonie. Der Umstand aber, daß beim periodischen Versuch die sogenannte sterile Phase auftritt ein Zustand, bei welchem eine Platinöse Bouillon, deren Aussaat vorher einen dichten Bakterienrasen zur Folge hatte, oft nicht mehr als 1 wachstumsfähigen Keim enthält, zeigt uns deutlich, in wie geringer Zahl sich die resistenten Bakterien in dem gesamten, anfangs der Viruswirkung ausgesetzten Material befanden. — Nach diesen Erfahrungen blieb nur noch zu erwägen, ob diese resistente Form virusbehaftet ist oder nicht. Zur Beantwortung dieser Frage wurde Material eines resistenten Stammes auf Bouillon verimpft, die stark angewachsene Kultur filtriert und das Filtrat im Plattenversuch gegen die empfindliche Form angesetzt. Dieser Versuch ergab die gänzliche Unwirksamkeit dieses Lysates und damit das Freisein der resistenten Form von Virus.

Auf Grund dieser experimentellen Feststellungen können wir die drei vorerst gestellten Fragen nach den Beziehungen des Virus zu den einzelnen Kolonienformen, welche beim periodischen Versuch auftreten, also beantworten: 1) Die Flatterformen und die Normalformen, welche vor dem Stadium der scheinbaren Sterilität auftreten, sind virusbehaftet. 2) Die Formen, welche nach dem Stadium der scheinbaren Keimfreiheit sichtbar werden, sind Normalformen; sie sind resistent und virusfrei.

Die bisher besprochenen Versuche wiesen aber noch auf die Möglichkeit weiterer Erkenntnisse, die sich in wesentlich anderer Richtung bewegen als die bis jetzt dargelegten. Wir sahen die Vermehrung des Virus auf lebenden Bakterien, einen Vorgang, der anscheinend zur Zerstörung der Stäbchen führte, wie uns die Aufhellung der bewachsenen Bouillon und die Sterilität der mit solcher geklärten Bouillon beimpften Agarplatte lehrten. Wir sahen aber auch Kolonienformen, Normalformen und Flatterformen, die mit Virus behaftet waren, die zweifellos auch aus

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

frisch gewachsenen Bakterien bestanden, die aber niemals aufgelöst wurden, sondern unverändert auf der Agarplatte ruhten gleichgültig, ob diese bei Zimmertemperatur oder Brutschranktemperatur standen. Hier lag ein Widerspruch vor. Warum sehen wir das eine Mal Lösung und das andere Mal nichts davon? Was unterschied die Bouillonemulsion, welche stets gelöst wurde und die Kolonien auf der Platte, welche stets unversehrt blieben? Offenbar konnte der Unterschied beider Kulturen nur darin liegen, daß in der Bouillonemulsion eine kräftige Vermehrung der frisch eingesäten Bakterien sich vollzog, während wir es auf der Platte mit zwar lebenden, aber doch ruhenden Keimen in ausgewachsenen Kolonien zu tun hatten. Für den Vermehrungsvorgang und die Wirkung des Virus schien also die Vermehrung der Bakterien wesentlich und nötig zu sein. Wir prüften diese Frage durch folgende Versuchsanordnung: Mit dem unverdünnten Lysat Fla VII wurde in einer Menge von 5 ccm eine 12-stünd. Kultur des empfindlichen Kruse-Stammes R. 1 abgeschwemmt. Diese sehr dichte Emulsion kam 30 Min. in den Brutschrank und wurde dann 15 Min. lang scharf zentrifugiert, wonach das überstehende Lysat abgegossen wurde. Die Berührung zwischen Bakterien und Virus betrug also 45 Min. Die abzentrifugierten Keime wurden dann mit physiol. NaCl-Lösung versetzt und wieder abzentrifugiert. Von dem Zentrifugat kam nunmehr ein kleiner Teil einmal in eine Bouillonmenge von 10 ccm, eine andere gleichgroße Bakterienmenge wurde in 10 ccm physiol. NaCl-Lösung verbracht. Von beiden Emulsionen wurde dann sogleich, ferner nach 1, 5 und 7 Std. je eine Platinöse auf eine Platte Drigalski-Agar abgeimpft und sorgfältig mit dem Spatel verteilt. Die Abimpfung aus dem Bouillonröhrchen zeigte jetzt genau das gleiche Verhalten, wie wir es beim periodischen Versuch zu sehen gewöhnt sind, d. h. fortlaufende Abnahme der Kolonienzahl bei gleichzeitiger Bildung von Flatterformen, dann scheinbare Sterilität und anschließend Vermehrung der Keime. Die Abimpfungen aus der Kochsalzlösung-Bakterienemulsion aber ergab bei allen Abimpfungen ein gänzlich anderes Ergebnis, d. h. alle Platten zeigten den gleichen üppigen Bakterienrasen, ohne daß darin auch nur irgendeine anormale Form sichtbar geworden wäre. Der Unterschied beider Versuchsergebnisse ist in die Augen springend. — Wir haben starke Wirkung in Bouillon und Wirkungslosigkeit in NaCl-Lösung. Das Versuchsmaterial d. h. die virusbeladenen Bakterien, ist beidesmal das gleiche; verschieden ist nur ihre Lebenstätigkeit in Bouillon und ihre Ruhe in Kochsalzlösung. Der Beweis, daß zur Vermehrung und Wirkung des Virus nicht nur lebende, sondern lebende und in Fortpflanzung begriffene Bakterien erforderlich sind, schien uns hiermit erbracht. — Es blieb nun noch zu prüfen, ob es die keimenden Bakterien selbst sind, welche das Nahrungsobjekt des Virus bilden, oder ob die Stoffwechselprodukte der sich vermehrenden Bazillen, wobei die scheinbare Auflösung der Bakterien nur ein sekundärer Vorgang ist, zur Vermehrung des Virus allein genügen. Zur Entscheidung dieser Frage wurde zunächst eine sogen. Stoffwechselbouillon hergestellt, d. h. eine Bouillon, auf der 48 Std. lang der empfindliche Kruse-Stamm R. 1 gewachsen war, wurde filtriert. Zu 10 ccm dieses Filtrates kam 0,5 ccm Lysat Fla VII. Ein 2. Röhrchen dieser Stoffwechselbouillon wurde außer mit 0,5 ccm Lysat Fla VII noch mit durch mehrmaliges Erhitzen auf 60° abgetöteten Keimen des Kruse-Stammes R. 1 versetzt. Die hier verwandte abgetötete Ruhrkultur wurde vor Benutzung sorgfältig auf Sterilität geprüft. Nach 24

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und 48 Std. Brutschrankaufenthalt erfolgte die Prüfung beider Proben im Plattenversuch. Beide erwiesen sich dabei als vollkommen wirkungslos. — Es genügen also zur Vermehrung des Virus weder die Stoffwechselprodukte des empfindlichen Stammes allein noch diese Produkte bei Anwesenheit toter Keime der lysiblen Kultur. — Wir ziehen aus diesen Ergebnissen den Schluß, daß das Angriffs- und Vermehrungsobjekt des Virus lediglich die in Teilung begriffenen Bakterien sind, während auf den lebenden, aber ruhenden Bazillen keine Virusvermehrung stattfinden kann. Eine Virusvermehrung auf toten Keimen kommt gar nicht in Betracht. — Nach Beendigung dieser Versuche fanden wir in der Literatur über den gleichen Punkt eine Angabe von Bail. Er stellt fest, daß nur die in Vermehrung befindliche Bakterienleibessubstanz durch ein d'Herelle-Virus gelöst wird. Seine Befunde decken sich also mit den unsrigen.

Wir sprachen im Vorhergehenden wiederholt von der Aufhellung der Bakterienemulsion durch ein d'Herelle-Lysat und mit Bezug auf diese Aufhellung von einer Auflösung der Bakterien als Ursache des Klarwerdens. Bei dieser Darstellung schlossen wir uns der Deutung dieses Phänomens von d'Herelle und von den meisten anderen Autoren an, welche über diesen Vorgang gearbeitet hatten. — Die Beobachtung jedoch, daß eine durch Fla VII fast vollkommen geklärte Bouillonkultur von Kruse-Ruhr noch sehr zahlreiche unversehrte Keime aufwies, veranlaßte uns, die Aufhellung als Folge einer vollkommenen Lösung der Keime in Frage zu stellen. Wir hielten es nach dieser Feststellung für nötig, das Verschwinden der Bakterien in der sich klärenden Bouillon einer Prüfung zu unterziehen. Hierbei schien es uns nicht ausreichend, daß wir nur eine qualitative Probe ausführten, durch die wir lediglich den Nachweis des Vorhandenseins oder des Fehlens von Keimen in einer durch Viruswirkung aufgehellten Bouillon erbrachten. Es schien uns vielmehr erforderlich, zahlenmäßig genau die erwartete Veränderung der Bakterienzahl festzulegen. Die Voraussetzung für dieses Unterfangen war der Besitz eines gut arbeitenden Zählungsverfahrens für Bakterien. Wir mußten aber bald einsehen, daß die beiden besten bekannten Methoden, d. h. das Kochsche Verfahren des Plattengießens mit folgender Zählung der Kolonien und die des Ausstreichens der Bakterien zusammen mit Erythrozyten zur Feststellung des relativen Mengenverhältnisses beider Gebilde sich als ungeeignet erwiesen. Das Platteverfahren war ungangbar, da es sich ja um die Feststellung mehr weniger geschädigter oder abgetöteter Keime handelte, und bei der Erprobung des 2. Verfahrens zeigte es sich, daß die roten Blutkörperchen unter der Wirkung des Färbungsvorganges sich teilweise vom Objektträger lösten, so daß an ein auch nur annäherndes Konstantbleiben ihrer Zahl bei den verschiedenen Ausstrichen nicht zu denken war. Das Haften der Erythrozyten ließ sich auch durch Beimengung von Blutserum zum Untersuchungsmaterial nicht verbessern. Wir halten daher diese Methode für sehr wenig zweckmäßig. — Aus diesem Grunde sahen wir uns zunächst vor die Aufgabe gestellt, ein brauchbares Zählungsverfahren auszuarbeiten. Nach längerem Experimentieren — die zahlreichen Fehlschläge sollen unerwähnt bleiben — erwies sich nachstehende Methode als brauchbar: Wir benutzten anstatt der, wie eben auseinandergesetzt, nicht verwendbaren Erythrozyten als Maßstab zur Feststellung der Menge der zu prüfenden Bakterien eine 2. Bakterienart. Die erheblichste Schwierigkeit, die sich der Ausführung dieses Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fahrens in den Weg stellte, war einmal die kaum erreichbare vollkommen gleichmäßige Verteilung der beiden Keimarten auf dem Objektträger, und 2. die gänzlich verschiedene Färbung beider Arten, welche jede Verwechslung der als Maßstab dienenden Sorte und der zu zählenden Sorte mit Sicherheit ausschloß. Besonders die Vermeidung jeder Haufenbildung einer Keimart oder auch nur die Gruppierung zu dichteren Arealen, die von dünner besetzten unterbrochen wurden, ließ sich bei Verwendung eines Objektträgerausstriches auch bei größter Sorgfalt nicht erreichen. Solche Unregelmäßigkeiten stellten sich als Folge der Verdunstungsströmungen beim Eintrocknen stets ein. Eine gleichsam ideale Anordnung unter Vermeidung jeder Anhäufung war nur im flüssigen Medium bei der Bedeckung eines Bakterienemulsionstropfens mit einem Deckgläschen erreichbar. Wir gingen deshalb endgültig folgendermaßen vor: Es erfolgte zunächst die Präparation der Vergleichsbakterien, zu denen wir einen Gasbrandbazillus Typ Fraenkel verwandten, auf folgende Art:

1. Fraenkel-Kultur 12 Std. alt, mit Aqua dest. abgespült. 2. Dazu Karbolgentianaviolett āā frisch filtriert. 3. Aufkochen über der Flamme 1—2 Min. 4. Abkühlen und Abzentrifugieren. 5. Abgießen der überstehenden Flüssigkeit und Auffüllen von Lugolscher Lösung. 6. Erwärmen 5 Min. im kochenden Wasserbad. 7. Abzentrifugieren und Abgießen der Lugolschen Lösung. 8. Auffüllen von phys. NaCl-Lösung und Abzentrifugieren. 9. Abgießen der NaCl-Lösung und Auffüllen von dünnem Karbolwasser, so daß eine dichte Bakterienemulsion entsteht. 10. 15 Min. Schütteln mit Glasperlen. 11. Filtrieren durch Glaswolle.

Wir haben somit ein Gram-Verfahren an einer Bakterienemulsion ausgeführt. Die Fraenkelschen Stäbchen erscheinen nach der Färbung tief blaurot und geben an das Karbolwasser fast gar keine Farbe ab. Durch das Schütteln mit Glasperlen wurden Klumpenbildungen zerstört und durch das Filtrieren durch Glaswolle etwa noch bestehende Häufchen zurückgehalten.

Zu einer bestimmten Menge dieser Standardbakterienemulsion (etwa 3 Tropfen) kam nun eine bestimmte Menge der zu prüfenden Bakterienemulsion (etwa 6 Tropfen). Von diesem Gemisch wurden etwa 2 Normalösen auf einen gut gereinigten Objektträger getupft. Der Objektträger wurde jetzt umgedreht, so daß der Tropfen nach unten hing. Dann berührte man mit dem Tropfen ein bereit gelegtes, gut geputztes Deckgläschen (18 × 18 mm). Die Flüssigkeit verteilt sich jetzt sofort in einem feinsten kapillaren Spalt meist ohne Bildung von Luftblasen (beim Auftreten von Luftblasen ist das Präparat ungeeignet) zwischen Objektträger und Deckglas. Die Verdunstung aus dieser kapillaren Kamera wird durch Umschließung der Ränder mit etwa 20proz. Gelatine verhindert. Hierzu taucht man einen Glasstab in den durch Erwärmen flüssigen Leim und streicht in einer Entfernung von 1—2 mm vom Deckglasrand parallel mit ihm den Leimtropfen aus. Die Gelatine verbreitet sich jetzt über den Deckglasrand und spannt sich nach dem Eintrocknen (1—2 Std.) als feine Membran über die Seitenwände dieser Mikrokamera. Das fertige Präparat wird jetzt im Dunkelfeld betrachtet. Hier erscheinen die gefärbten Keime der Standardlösung tief burgunderrot, während die ungefärbten Bakterien hell aufleuchten. Die Mikroben bewegen sich nicht von der Stelle, sie sind vollkommen gleichmäßig über das ganze Präparat verteilt, eine Klumpenbildung ist äußerst selten. — Wir haben hiermit also unsere Forderungen d. h. genaue Unterscheid-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

barkeit beider Bakterienarten und vollkommen homogene Ausbreitung über das Gesichtsfeld, ohne daß die Möglichkeit einer zahlenmäßigen Verringerung der einen oder anderen Art durch den Färbungsprozeß besteht, erreicht. — Bei der Auszählung bestimmt man nun in einer möglichst großen Anzahl von Gesichtsfeldern die Zahl der roten (d. h. der gefärbten Testbakterien) und der weißen (d. h. der ungefärbten, zahlenmäßig zu bestimmenden) Keime, und errechnet dann den Durchschnitt. Bleibt das numerische Verhältnis beider Arten ungeändert, so ist auch die Zahl der zu prüfenden Bakterien die gleiche geblieben. Andernfalls ergibt sich aus einer relativen Verminderung oder Vermehrung der weißen, verglichen mit den roten, eine dementsprechende absolute Vermehrung oder Verminderung der zu prüfenden Keime.

Für unsere Zwecke wurde diese Methode in nachstehender Weise angewandt: zu 2 ccm Lysat Fla VII kamen 2 Tropfen einer sehr dichten Kochsalzemulsion des empfindlichen Kruse-Stammes. Mit dieser Lysatemulsion wurde ein periodischer Versuch angestellt und gleichzeitig bei jeder Abimpfung eine Auszählung der Ruhrbakterien vorgenommen. Das Ergebnis zeigt nachstehende Tabelle I.

Tabelle I.

Zeit der Abimpfung nach Zusatz des Virus	Wachstum auf der Platte (Platte 18 cm Durchmesser)	Ergebnis der Zählung
Kontrolle vor Zusatz des Virus	dichter Bakterienrasen	$\frac{r}{w} = 1/1{,}26$
2 Std.	Zentrum steril. Randpartien mit spärlich stehenden N.- und Fl.-Formen bewachsen	$\frac{r}{w} = 1/1{,}37$
6 „	etwa 250 Fl.-Formen	$\frac{r}{w} = 1/1{,}28$
8 „	steril	$\frac{r}{w} = 1/1{,}7$
24 „	steril	$\frac{r}{w} = 1/1{,}—$

r = rote Bakterien der Standardbakterienemulsion, w = Ruhrbakterien.

Wir sehen, daß sich das zahlenmäßige Verhältnis der weißen und der roten Keime praktisch während des ganzen Versuches nicht ändert, woraus ein weitgehendes Konstantbleiben der Menge der Ruhrkeime hervorgeht. Trotzdem ist nach etwa 8 Std. Viruswirkung Sterilität eingetreten und gleichzeitig eine fast vollkommene Aufhellung der vorher stark getrübten Lysatemulsion zu beobachten. Dieses Ergebnis ist von prinzipieller Bedeutung, denn es zeigt uns, daß die Auflösung der Keime kein notwendiger Vorgang für die Wirkung und Vermehrung des Virus ist sondern offenbar nur ein sekundärer. Dieser Versuch läßt uns aber auch eine sehr merkwürdige optische Erscheinung wahrnehmen, denn die anfänglich trübe Lysatemulsion, deren Trübung durch die Bakterienleiber verursacht war, hellt sich auf, ohne daß die Keime verschwinden. Die Lichtstrahlen können in diesem Stadium also fast ungehindert passieren, sie werden nicht mehr absorbiert, reflektiert oder zerstreut (gebeugt). Die Bakterien entziehen sich damit der makroskopischen Wahrnehmung. Trotzdem sind im Dunkelfelde und auch im Hellfelde, wie

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

uns dementsprechende Untersuchungen zeigten, diese durch Lysatwirkung beeinflußten Bakterien genau so gut erkennbar wie unbehandelte. Wir vermögen für diese höchst eigenartige optische Erscheinung keine ausreichende Erklärung zu geben und wollen uns von anfechtbaren Hypothesen fernhalten. So viel aber läßt sich wohl sagen, daß der Vorgang den Eindruck erweckt, als würden die Keime ausgelaugt, so daß ihre Transparenz zunimmt. — Als wir den eben geschilderten Versuch noch mit einem anderen Virus (U 15. 9), das große Wirksamkeit gegen einen Coli-Stamm (Coli 717) besitzt, wiederholten, konnten wir nach anfänglicher morphologischer Unversehrtheit der Bakterien ein ziemlich plötzliches spurloses Verschwinden derselben feststellen. Diese Auflösung fiel zeitlich mit der Aufhellung der Lysatemulsion und der Sterilität der beimpften Platten zusammen. Hier spielt sich zweifellos eine vollkommene Lysis ab. Dieser Vorgang ist aber, wie uns die 1. Beobachtung lehrt, kein bei allen Lysaten eintretender. Wir müssen ihn daher wohl, wie wir schon oben erwähnten, als einen für die Wirkung des Virus und die Vermehrung des d'Herelleschen Agens nicht unbedingt notwendigen bezeichnen.

Wenn uns auch alle die bisher beschriebenen Beobachtungen und die daraus abgeleiteten Erkenntnisse und Regeln einen gewissen Einblick in die Wechselbeziehungen des Virus und der Bakterien eröffnen, so sind sie doch nicht dazu angetan, ein entscheidendes Urteil über die Herkunft des Agens und damit über seine Wesensart zu ermöglichen. Wenn aber irgendeine Erfahrungstatsache geeignet sein dürfte, zur Aufhellung der Natur dieses rätselhaften Körpers beizutragen, so muß es die Kenntnis seiner Herkunft sein. Nach der von d'Herelle vorgetragenen Ansicht handelt es sich bei unserem Virus um einen ziemlich ubiquitär vorkommenden Parasiten aller möglichen Bakterienarten. Er soll sich außer im Stuhl von Mensch und Tier auch in Sümpfen, Fluß- und Meerwasser befinden. Diese Auffassung des Virus als eines Parasiten der Bakterien steht die Meinung von Otto und ganz besonders die von Jötten gegenüber, welche behaupten, das Virus sei aus den Bakterien gewinnbar nicht im Sinne eines den Keimen anhaftenden, von ihnen isolierbaren Fremdkörpers, sondern als eine vom Bakterienleibe abstammende ferment- oder lysinähnliche Substanz. Jötten will dementsprechend das Virus aus zahlreichen alten Bakterienkulturen gewonnen haben und spricht auf Grund seiner Deutung von der Autolyse der Bakterien. Diese Hypothese von Jötten hat nun im Falle ihrer Richtigkeit prinzipielle Bedeutung, insofern sie die Möglichkeit des parasitären Charakters des Virus d. h. die Möglichkeit daß wir es mit einem auf Kosten der lebenden Bakterien sich vermehrenden Organismus zu tun haben, ausschließt, während sie demgegenüber die Fermentnatur des Agens d. h. seine Unbelebtheit als gesichert erweisen würde. Wir sehen, daß hier die Frage nach dem Ursprunge des Virus mit der Frage nach dem Wesen unseres Untersuchungsobjektes zusammenfällt. Es schien uns daher ein unerläßliches Erfordernis, die von Jötten vertretene Ansicht durch entsprechende Experimente nachzuprüfen.

Jötten beschreibt 3 Verfahren, die er zur Gewinnung seiner Lysate aus den Bakterienleibern verwandte, und die er für beweisend für die Autolysatnatur resp. Lysinnatur des Virus hält. Erstens hielt er sehr dichte Bouillonabschwemmungen von Bakterien 8—24 Tage im Brutschrank, filtrierte dann und erwärmte das Filtrat $1/2$ Std. auf 56°. Zweitens versetzte er solche Bakterienabschwemmungen, nachdem sie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1 Std. auf 56° erhitzt waren, mit Trypsin (0,1 Proz.) und gewann dann schon nach 3 Tagen Brutschrankaufenthalt die Lysate auf die gleiche, wie eben beschriebene Weise. Drittens nennt er einen Fall, bei dem eine Pseudodysenteriekultur 1 Std. auf 80° erwärmt wurde und nach Behandlung mit 1-proz. Trypsin bei gleichzeitigem 7-täg. Brutschrankaufenthalt ein schwach wirksames Virus ergab, das nach einigen Passagen über den empfindlichen Bakterienstamm stärker wurde.

Wir wollen nun zunächst unsere diesbezüglichen Beobachtungen beschreiben und dann auf die Angaben Jöttens zurückkommen. — Wir verimpften 11 verschiedene Bakterienstämme, einige davon mehrere Male, auf Bouillon und ließen diese Kulturen 26—366 Tage im Brutschrank stehen. Diese Bouillonkulturen wurden dann filtriert (durch Berkefeld-Filter) und die Filtrate im Plattenversuch stets gegen den Eigenstamm und außerdem gegen eine Kruse-Ruhr (R I), Typhusstamm, Paratyphus B-Stamm, Fleischvergifterstamm Breslau, Y Ruhrstamm, Flexner-Ruhrstamm und Coli-Stamm 717 auf Wirksamkeit mehrmals geprüft. Eine Tabelle gibt über die Art des Stammes, die

Tabelle II.

Art des Stammes	Zeit der Emulsion im Brutschrank	Im Plattenversuch geprüft gegen Stämme	Ergebnis
Nr. 1 Kruse-Ruhr	95 Tage	K-Ruhr, Ty, Para Ty B, Fleischvergifter, Y-Ruhr, Flexner-Ruhr, Coli 717	überall neg.
Nr. 2 Flexner-Ruhr	42 und 88 Tage	ebenso	dgl.
Nr. 3 Y-Ruhr	45 Tage	ebenso	„
Nr. 4 Typhus Nr. 1	46 „	ebenso	„
Nr. 5 Paracoli 631	28 „	ebenso	„
Nr. 6 Typhus 863	49 „	ebenso, dazu Typhus 863	„
Nr. 7 Coli 348	54 „	ebenso, dazu Coli 843	„
Nr. 8 Coli D.	366 „	ebenso, dazu Coli D.	„
Nr. 9 Coli 717	76 „	ebenso	wirksam gegen K-Ruhr, Ty, Fleischvergifter, Y-Ruhr
Nr. 10 Coli 717	26 „	ebenso	überall neg.
Nr. 11 Coli 717	48 „	ebenso	„
Nr. 12 Coli 82 weiß	31 „	ebenso, dazu Coli 82 weiß und rot	„
Nr. 13 Coli 82 rot	31 „	ebenso, dazu Coli 82 weiß und rot	wirksam gegen 82 rot, Ty, Fleischvergifter

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dauer seines Aufenthaltes im Brutschrank und die lytischen Fähigkeiten des gewonnenen Filtrates Auskunft (Tab. II).

Wir sehen, daß der Flexner-Ruhrstamm 2mal und der Coli-Stamm 717 3mal angesetzt und geprüft wurden.

Die Tabelle ergibt weiter, daß wir unter den 11 Stämmen 2 positive Resultate hatten, d. h. daß wir 2mal wirksame Lysate gewannen. Das ist bei Coli 717 und bei Coli 82 rot der Fall. Diese beiden Stämme aber zeigen vom Augenblick ihrer Kultivierung aus dem eingesandten Material an Besonderheiten, die wir genau erörtern müssen.

Coli 717 stammt aus einem Urin, der uns am 7. Sept. 1922 zur Untersuchung auf Bakterien eingesandt wurde. Die Drigalski-Agarplatte, auf welche er ausgestrichen wurde, zeigte nach 16 Std. Brutschrankaufenthalt eine größere Anzahl von Coli-Kolonien, die sich teils als typische Flatterformen erwiesen, teils normal aussahen. Die Flatterformen wurden auf einige Bouillonröhrchen verimpft, welche sich im Brutschranke trübten und deren Inhalt dann filtriert wurde. Das Filtrat (U. 15 9 genannt) zeigte im Plattenversuch sehr starke Wirksamkeit gegen Coli 717 und sehr schwache gegen den Kruse-Ruhrstamm R 1 und gegen Fleischvergifter Breslau. Fortgesetzte Passagen auf Coli 717 änderten an der Wirksamkeit des Virus nichts. Eine der auf der Drigalski-Agarplatte, welche mit dem eingesandten Urin beschickt war, entstandenen Normalformen wurde auf Bouillon verimpft und blieb so 76 Tage im Brutschranke (Nr. 9 der Tab. II). Das am 76. Tage gewonnene Filtrat (717 f genannt), zeigte im Plattenversuch starke Wirksamkeit gegen Typhusbakterien, Kruse-Ruhrbakterien, Y-Ruhrbakterien und Fleischvergifterbakterien Breslau, aber niemals trotz immer erneuter Versuche gegen den Eigenstamm Coli 717! — Nachdem eine von der Ausgangsplatte gewonnene Normalform, die wir als Coli 717 bezeichnen, 10- resp. 20mal überimpft war, wurden auch Bouillonkulturen von ihr in den Brutschrank gestellt und nach 26 resp. 48 Tagen filtriert (Nr. 10 und 11 der Tab. II). Die Filtrate dieser Kulturen blieben gegen alle Stämme, gegen die sie erprobt wurden, vollkommen wirkungslos.

Wir haben hier also einen Stamm vor uns (Coli 717), der bei Gewinnung aus der Körperflüssigkeit Flatter- und Normalformen bildet. Die Flatterformen erweisen sich als mit Virus behaftet. Eine alte Bouillonkultur derjenigen Normalform, welche der 1. Generation des dem Körper entnommenen Bakterienstammes angehört, zeigt sich ebenfalls virushaltig. Dies Virus aber unterscheidet sich von dem aus der Flatterform gewonnenen dadurch, daß es gegen den Eigenstamm unwirksam erscheint, während das aus der Flatterform gezüchtete Virus gegen Coli 717 höchste Wirksamkeit besitzt. Wir werden auf diesen Punkt später noch genauer eingehen. Die mit späteren Generationen der Normalform dieses Coli-Stammes angesetzten Kulturen aber erweisen sich als virusfrei. Die Tatsache nun, daß lediglich die aus der 1. Generation stammende, aus einem Virus-beladenen Urin hervorgegangene Normalform befähigt war, ein Virus abzugeben, während die späteren Generationen, die in keine Berührung mit virushaltigem Material mehr gekommen waren, kein wirksames Lysat mehr lieferten, ist nur so zu deuten, daß die Normalform der 1. Generation virusbehaftet war und lediglich dieses Virus nach seiner Vermehrung aus der Bouillon gewonnen wurde. Die späteren, aus virusfreier Umgebung stammenden Kulturen aber waren virusfrei und vermochten daher auch kein wirk-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sames Agens an die Bouillon abzugeben. Daß hier eine Entstehung durch Autolyse in Betracht kommt, läßt sich wohl nicht behaupten, denn warum sollte lediglich die Normalform der 1. Generation der Autolyse verfallen und die späteren Generationen unter vollständig gleichen Bedingungen nicht mehr dazu befähigt sein?

Bei dem Coli-Stamm 82 rot liegen die Verhältnisse ganz ähnlich. Die Vorgeschichte des hier gewonnenen Lysates ist folgende: Eine zur Untersuchung auf Typhusbakterien eingesandte Stuhlprobe ergab nach dem Ausstreichen auf Endo-Agar zahlreiche Coli-Flatterformen. Außer diesen Flatterformen fanden sich noch 2 Coli-Normalformenarten, die sich dadurch unterschieden, daß die einen stark gerötet waren, also offenbar reichlich Säure gebildet hatten, während die andere nur eine schwache Rötung aufwies (Coli weiß). Wir glaubten daher, 2 verschiedene Coli-Stämme, die sich durch ihr Säurebildungsvermögen unterschieden, vor uns zu haben. Die Flatterformen schienen alle dem guten Säurebildner (82 rot genannt) anzugehören. Von den Flatterformen wurden 5 auf 5 Bouillonröhrchen verimpft. Davon blieben 4 steril und eine trübte sich. Alle 5 wurden zusammengegossen und die Bouillonkulturen filtriert. Das so gewonnene Filtrat zeigte, im Plattenversuch geprüft, nachstehende Wirksamkeit:

Tabelle.

Coli 82 rot	Coli 82 weiß	Kruse-Ruhr	Typhus	Paratyphus B	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Flexner-Ruhr
++++	+++	—	++++	—	++	+++	—

Das Wichtigste ist seine starke Wirkung gegen Coli rot und seine deutlich schwächere gegen Coli weiß. — Die Normalformen beider Coli-Arten wurden weitergezüchtet und die 2. Generation auf Bouillon, die 31 Tage im Brutschrank blieb und dann filtriert wurde, verimpft (Nr. 12 und 13 der Tabelle Nr. 2). Das Filtrat des Stammes 82 weiß erwies sich als unwirksam, während das von 82 rot folgende Eigenschaften zeigte:

Tabelle III.

Coli 82 rot	Coli 82 weiß	Kruse-Ruhr	Typhus	Fleischvergifter	Flexner-Ruhr	G-Ruhr
++++	—	—	±	±	—	—

Wir sehen hier wieder, daß die aus einem virusbeladenen Medium stammende Normalform von 82 rot, eines Stammes, der gegen das im Stuhl befindliche Virus besonders empfindlich ist, in 2. Generation zur Gewinnung eines wirksamen Lysates geeignet ist. Die Normalform von 82 weiß aber, eines Stammes, der weniger empfindlich gegen das Virus der Stuhlprobe ist, läßt kein wirksames Lysat mehr abfiltrieren. Der Vorgang ist auch hier klar. Die Normalform von rot ist in 2. Generation ihrer großen Empfindlichkeit gegen das vorhandene Virus wegen noch virusbeladen. Sie gibt dem Agens Gelegenheit zur Vermehrung und gestattet seine Wiedergewinnung aus der Bouillonkultur. Die Normalform von weiß aber ist erheblich weniger empfindlich gegen das Virus des Stuhles und daher auch früher d. h. schon in 2. Generation virusfrei. Somit kann aus ihrer Bouillonkultur auch kein wirksames

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Agens mehr gewonnen werden. Weist dieser Vorgang auch nur im geringsten auf eine Autolyse durch ein von den Bakterien abstammendes Autolysin hin?

Wir fassen zusammeu: Bei 11 Stämmen gelang es uns, aus alten Bouillonkulturen 2mal wirksame Lysate zu gewinnen, während es 9mal nicht möglich war. Die beiden Stämme, bei denen ein Virus erschien, kamen unmittelbar aus virusbeladener Umgebung. Bei den anderen 9 Stämmen, die schon viele Generationen auf virusfreiem Nährboden gewachsen waren, fand sich kein wirksames Lysat.

Was spricht nun dafür, den wirksamen Körper der d'Herelleschen Filtrate für ein Autolysin zu erklären? Wir glauben, daß aus den mitgeteilten Versuchen nichts dafür, aber sehr Gewichtiges dagegen spricht. Es ist nämlich in keiner Weise verständlich, warum sich ein Autolysin nicht stets bilden sollte, sofern die Bedingungen, unter denen die Bildung des so benannten Körpers mehrfach beobachtet wurde, vorliegen. Warum bleibt die Produktion dieses Fermentes nur ganz wenigen Stämmen vorbehalten? Wodurch unterscheiden sich diese wenigen zur „Autolyse" befähigten Stämme von den anderen, die dazu nicht geeignet sind? Es scheint uns, daß auf diese Fragen die Anhänger der Jöttenschen Theorie wohl kaum eine befriedigende Antwort geben können. Sodann wird die Autolysintheorie durch die Tatsache widerlegt, daß ein wirksames Lysat nur bei den Stämmen entstand, die zweifellos kurz vorher vor ihrer Verarbeitung mit einem Virus in Berührung waren, während die aus virusfreier Umgebung stammenden kein Lysat ergaben. Endlich zeigte das von der Normalform des Coli-Stammes 717 gewonnene Filtrat keinerlei Wirksamkeit gegen den Stamm, von dem es gewonnen war. Es müßte hier also ein Autolysin vorliegen, das den Organismus, der es angeblich produzierte, gar nicht zu lysieren vermochte. Dies scheint uns doch allzu unbegreiflich zu sein.

Nach Feststellung dieser Tatsachen kommen wir auf die vorher genannten Versuche Jöttens zurück. Daß es Jötten nach einer 8- bis 24tägigen Brutschrankbehandlung bei einer Anzahl von Stämmen möglich war, wirksame Filtrate zu gewinnen, beweist jetzt nichts mehr für die Natur dieser Lysate als autolytische Fermente. Die Kulturen, bei denen Jötten das Experiment gelang, waren lediglich Mischkulturen im Sinne d'Herelles. Unter Mischkulturen versteht d'Herelle solche virusbehafteten Stämme, bei denen sich die Angriffsstoffe des Agens und die Abwehrstoffe der Bakterien das Gleichgewicht halten, so daß eine Vermehrung des Virus eintritt, ohne daß dadurch eine Vernichtung der Bakterien erfolgt. Es hat nun die Annahme, daß sich unter alten und frischen Stämmen nicht selten solche Mischkulturen befinden, ohne daß das Vorhandensein des Virus erkannt wird, nichts Befremdliches; denn die Gegenwart des Virus wird erst manifest, sobald wir es durch Filtration von den Bakterien trennen. Und das hat Jötten lediglich bei seinen Versuchen getan. Die 2. Versuchsanordnung, bei der Jötten seine Kulturen vor der Brutschrankbehandlung 1 Std. auf 56° erwärmte und dann mit Trypsin versetzte, beweist in keiner Weise die vorherige Vernichtung eines den Keimen event. anhaftenden Virus und damit die Entstehung des später hervortretenden Agens aus der Bakteriensubstanz. Wir wissen, daß die d'Herelleschen Filtrate Temperaturen bis 75° vertragen (Otto), ohne abzusterben. Auch der eine Fall einer Pseudodysenterie, die vor ihrem Brutschrankaufenthalt 1 Std. auf 80° erwärmt wurde, hat keine große Beweiskraft, denn unsere Kenntnisse über das

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

d'Herellesche Agens sind bei weitem noch nicht so weit gediehen, daß wir mit Sicherheit behaupten könnten, daß jeder Bakteriophage durch Erwärmen auf 80° abgetötet wird. Ferner zeigt die Tatsache, daß das auf die genannte Art gewonnene Filtrat anfangs sehr schwach war, während es nach einigen normalen Passagen erheblich an Wirksamkeit gewann, daß es aus einem Medium stammte, welches ihm in keiner Weise zusagte und eine Vermehrung wohl kaum ermöglichte. Wie soll aber eine Versuchsanordnung die Entstehung dieses Körpers aus dem Bakterienleib herbeiführen oder begünstigen, wenn sie sich ungünstig für die Existenzansprüche dieses Körpers erweist? Jötten hätte seinen Dysenteriestamm, bevor er ihn der Behandlung mit Wärme und Trypsin aussetzte, genauestens prüfen müssen, ob er frei von Virus ist. Erst dann, wenn der genannte Stamm vor der geschilderten Prozedur frei von Virus war, hinterher aber virushaltig, erst dann hätte dieser Versuch Beweiskraft gewonnen. Jetzt aber scheint uns die Deutung, daß hier ein dem betr. Stamm anhaftender Bakteriophage die geschilderte Prozedur unter erheblicher Schädigung überstand, viel überzeugender. — Schließlich will Jötten seine Theorie noch dadurch stützen, daß es ihm gelang, die Lysate auf Bakterienemulsionen, die mit einer Temperatur von 56° vorbehandelt und dadurch angeblich abgetötet waren, weiter zu züchten. Wie lange diese Erwärmung der Bakterien auf 56° erfolgte, sagt Jötten nicht. Er sagt auch nichts von einer Sterilitätsprüfung dieser abgetöteten Emulsionen vor ihrem Gebrauch zur Bakteriophagenzüchtung. Folglich erscheint es uns nicht nur möglich, sondern sogar wahrscheinlich, daß die abgetöteten Emulsionen von Jötten einzelne lebende Keime enthielten, welche sich in den dichten Bakterienaufschwemmungen vermehrten (vgl. Ficker) und die dann dem Virus zur Nahrung dienten. — Wir verweisen hier auch auf die Angaben von Kuttner und Kabelick, die beide berichten, daß abgetötete Kulturen nicht gelöst werden.

Doch ist bei der Beurteilung der Ansicht Jöttens noch weiteres zu beachten. Nach ihm muß der Bakteriophage (Autolysin) unterschiedslos tote und lebende Bakterien auflösen und sich auf ihnen vermehren können, denn das Wachstum auf toten Bakterien hebt Jötten ausdrücklich hervor. Die Vermehrung auf lebenden setzt er wohl als selbstverständlich voraus. Sie läßt sich wohl auch nicht bestreiten, da der Vermehrungsvorgang des Virus in der Norm hauptsächlich in den ersten 6—8 Std. auf ganz jungen Kulturen erfolgt (d'Herelle hebt immer wieder die bessere Eignung junger Keime als die alter hervor), wo sich wohl kaum abgestorbene Exemplare in irgendwie nennenswerter Anzahl finden. Solch ein Ferment oder Bakteriolysin aber müßte jede Kultur empfindlicher Bakterien, gleichgültig ob sie aus lebenden oder toten Keimen besteht, auflösen. Diese unerläßliche Forderung steht jedoch im stärksten Widerspruch mit der von uns schon früher hervorgehobenen Tatsache, daß virusbeladene aber ruhende Kolonien niemals vom Bakteriophagen angegriffen werden. Sie widerspricht auch der Tatsache, daß sich ein Lysattropfen in einem dichten Bakterienrasen niemals weiter ausbreitet, als bis dorthin, wohin er nach dem Auftropfen verlief. Wäre er ein sich vermehrendes Lysin, so müßte er sich, da er mit den Rändern allenthalben an die von ihm lösbaren Körper anstößt und sich dabei vermehrt, fortgesetzt weiter verbreiten. Das kommt aber, wie gesagt, nie vor.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir kommen also auf Grund unserer eigenen Versuche und auf Grund einer kritischen Betrachtung der Experimente Jöttens zu dem Schluß, daß die Deutung des d'Herelleschen Phänomens als autolytischen Vorgang strikt abzulehnen ist. Wir müssen vielmehr der Ansicht, daß der Bakteriophage lediglich ein Ferment oder ein fermentähnliches Gebilde oder ein in der Bakterienzelle präformierter oder ein bei ihrem Untergang entstehendes Zerfallsprodukt sei, mit aller Entschiedenheit entgegentreten. Es liegt kein von der toten oder lebenden Bakterienzelle herstammender Stoff vor sondern ein Fremdkörper, der auf die Mikroben einwirkt. — Diese Erkenntnis setzt die Tatsache der Vermehrungsfähigkeit des Virus, die von niemand bestritten wird, bei gleichzeitiger Berücksichtigung seiner korpuskulären Gestalt — die Gründe hierfür werden im nachstehenden Abschnitt dargelegt werden — in ein besonderes Licht. Sie zwingt uns zu dem Schluß, daß das Agens imstande sein muß, Bestandteile der Bakterienzelle oder des Nährbodens oder beider in körpereigene Substanz umzuwandeln. Denn nur aus einem der beiden genannten Substrate oder aus beiden kann das Material für die neu entstehenden Virusmengen stammen. Der Bakteriophage ist also der Assimilation fähig. Würde jedoch fortgesetzt nur Ansatz körpereigener Substanz ohne Abbau derselben oder ohne Abbau von lediglich zu Kraftleistungen aufgenommenen Stoffen stattfinden, so wäre es unverständlich, woher der Bakteriophage die Energie zur Zerstörung der Bakterienzelle — sei dies nun eine mechanische oder fermentative Leistung — nehmen sollte. Hierzu muß das Virus vielmehr hochwertige Körpersubstanz oder Reservestoffe abbauen und ausscheiden. Auch müßte bei fortgesetzter Anlagerung von Substanz ohne Abgang davon die Größe des Bakteriophagen etwa wie die eines Kristalles dauernd zunehmen, so daß er bald mikroskopisch sichtbare Dimensionen erreicht haben würde. Denn daß ein unaufhörlicher gleichzeitiger Zerfall die Größenzunahme durch Ansatz wieder aufheben sollte, würde eine vollkommene Ausnahme im physikaliscen Geschehen bedeuten. Weder ein wachsender Kristall zerfällt fortgesetzt, noch zerfallen kolloidale Teilchen, die durch Ausflockung d. h. Zusammenfließen mehrerer an Größe zunahmen, solange nicht die physikalisch-chemische Zusammensetzung des umgebenden Mediums grundlegend geändert wird. Das Virus muß also auch dissimilieren. Das bedeutet aber, daß der Bakteriophage eines Stoffwechselvorganges fähig ist. Wir legen auf diese Feststellung besonderen Wert, da sie zur abschließenden Beurteilung der Wesensart des Agens von weittragender Bedeutung ist. Bevor wir jedoch zu endgültigen Schlüssen in dieser Richtung schreiten, sind noch weitere Untersuchungen erforderlich.

Das Lysat 717 f (gewonnen nach 76-tägigem Brutschrankaufenthalt des Coli 717), welches uns schon einmal wichtige Dienste geleistet hatte, erwies sich zur Eröffnung noch anderer Erkenntnisse als geeignet. Das genannte Filtrat wurde in 6 verschiedenen Röhrchen, von denen jedes eine Menge von 10 ccm enthielt, 2 Mon. lang aufbewahrt. Dann wurde jede Lysatabfüllung erneut auf Wirksamkeit gegen Coli 717, Typhusbakterien, Fleischvergifterbakterien, Paratyphus B-Bakterien, Y- und Flexner-Ruhrbakterien geprüft. Diese Untersuchung ergab das nicht erwartete, in nachstehender Tab. IV niedergelegte Ergebnis.

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle IV.

Coli 717	Kruse-Ruhr	Typhus	Paratyphus B	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Flexner-Ruhr	Nr. des Lysatröhrchens	Tag der Untersuchung
—	+	+	—	—	+	—	2	8. Dez. 1922
—	+	±	—	—	—	—	3	18. Dez. 1922
—	+	—	—	—	+	—	4	18. Dez. 1922
—	+	+	—	+	—	—	5	19. Dez. 1922
—	+	—	—	+	—	—	6	20. Dez. 1922
—	+	+	—	+	—	—	7	21. Dez. 1922

Man erkennt aus dieser Tabelle, daß die einzelnen Abfüllungen des Filtrates an den einzelnen Tagen verschiedene Wirkungsbreite besitzen, d. h. daß sie gegen mehrere oder wenigere der geprüften Stämme lytische Fähigkeiten aufweisen. Dieser Ausfall ist mit der Tatsache, daß alle Röhrchen das gleiche Lysat enthalten, schwer vereinbar. Es erweckt den Eindruck, als hätten sich die einzelnen Abfüllungen in ihrer Zusammensetzung geändert. Das klingt aber auch nicht wahrscheinlich. Daher muß noch eine andere Möglichkeit ins Auge gefaßt werden. Nehmen wir an, daß das Virus in den einzelnen Röhrchen unverändert geblieben ist, und daß der Grund für den verschiedenen Ausfall an den einzelnen Tagen in einem Wechsel der Empfindlichkeit der Stämme zu suchen ist, von denen ja jedesmal neue Generationen zum Versuch verwandt wurden, so müßte bei der Prüfung von Typhusbakterien, Fleischvergifterbakterien, Y-Ruhrbakterien am gleichen Tage mit allen Lysaten bei allen Proben durchweg ein positiver oder negativer Ausfall eintreten, je nachdem die geprüfte Generation des betreffenden Stammes am Versuchstage empfindlich war oder nicht. Ergibt sich bei dieser Versuchsanordnung jedoch, daß die einzelnen Lysate wiederum den genannten Stämmen gegenüber in gleicher Weise, wie in der Tab. IV mitgeteilt, teils Wirksamkeit teils keine besitzen, so müssen wir annehmen, daß die einzelnen Abfüllungen in ihrer Zusammensetzung verschieden geworden sind, während die Stämme keinen Wechsel der Empfindlichkeit besitzen. Beobachten wir jedoch als 3. denkbaren Ausfall des in Aussicht genommenen Versuches eine wieder gänzlich neue Wirkungsbreite der einzelnen Lysate derart, daß sie weder durchgängig positiv oder negativ bei Typhusbakterien, Fleischvergifterbakterien und Y-Ruhrbakterien oder gleichsinnig mit den Ausfällen der Tab. IV reagieren, so ist nur nachstehende Erklärung möglich: Die Filtrate der einzelnen Röhrchen enthalten korpuskuläre Elemente, welche die wirksamen Bestandteile sind. Der verschiedene, vollkommen regellose Ausfall bei den einzelnen Prüfungen kann einmal dadurch herbeigeführt werden, daß man bei geringer Anzahl der Viruskörperchen das eine Mal mit der Platinöse einige derselben erfaßt und das andere Mal nicht. Oder die Verhältnisse liegen so, daß zwar sehr zahlreiche kleinste Virusträger vorhanden sind, so daß sich in jedem Tropfen eine erhebliche Anzahl derselben befindet; doch sind diese Körperchen untereinander verschieden in ihrer spezifischen Wirksamkeit. In diesem Falle würde bei negativem Ausfalle des Versuches diejenige Art, welche gegen den betreffenden Stamm wirksam ist, in dem Lysattropfen gefehlt haben. — Betrachten wir nun nach diesen Ueberlegungen die Tabelle, welche über den Aus-

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

fall der genannten Versuchsanordnung, d. h. Prüfung aller Lysatabfüllungen gegen denselben Stand am gleichen Tage Auskunft gibt (Tab. V).

Tabelle V.

2	3	4	5	6	7	Geprüfter Stamm	Nr. des Lysatröhrchens
++	—	++	±	++	++++	Typhus	
+++	+++	—	±	+++	+++	Fleischvergifter	
—	—	—	—	—	—	Kruse-Ruhr	
+++	+++	—	—	++++	++++	Y-Ruhr	

Es zeigt sich hier ein gänzlich neues Bild, das mit dem der Tab. IV keine Aehnlichkeit aufweist. Auch kann von einem gleichsinnigen Verhalten der Stämme von Typhus, Fleischvergifter und Y-Ruhr gegen alle Lysate am gleichen Tage keine Rede sein. Besonders auffallend ist das völlige Versagen der Kruse-Ruhr in allen Fällen, während die Tab. IV ihre jedesmalige Lösung zeigt. Der Versuch ist mithin so ausgefallen, daß nur die beiden zuletzt genannten Möglichkeiten, welche das Vorhandensein von korpuskulären Elementen fordern, als Deutung in Betracht kommen. Welche von beiden aber zutrifft, d. h. ob wenige gleichartige oder zahlreiche verschiedene Körperchen vorliegen, muß im Augenblick noch offen gelassen werden. Wir können uns jedoch bei dem völligen Versagen der Kruse-Ruhr in allen Fällen, wie es Tab. V zeigt, und der ständigen Wirksamkeit der Lysate gegen diesen Stamm, wie die Tab. IV angibt, des Eindruckes nicht erwehren, daß auch eine gewisse verschiedene Empfindlichkeit der einzelnen Generationen derselben Kultur beim Ausfall mitspricht.

Als vorläufiges Ergebnis können wir jedenfalls folgendes feststellen: Die wirksamen Bestandteile der Lysate sind korpuskuläre Elemente, die entweder gleichartig oder ungleichartig untereinander sind. Wir nennen sie Lysateinheiten. Diese Deutung stimmt auch mit der Auffassung anderer Untersucher (d'Herelle, Seiffert, Prausnitz), welche alle die korpuskuläre Form des Virus annehmen, überein.

Ueber die feinere Struktur solcher Lysateinheiten geben uns andere Versuche und Ueberlegungen Auskunft. Es wurde von allen bisher von uns genannten Filtraten berichtet, daß sie nicht nur gegen einen Stamm sondern gegen mehrere lytische Fähigkeiten besitzen. Diese Beobachtung stimmt mit denen aller anderen Experimentatoren überein. Es fragt sich nun, ob ein Virus bei der fortgesetzten Züchtung auf einem bestimmten empfindlichen Stamme (Zuchtstamm) seine Wirksamkeit auch gegen die anderen Stämme (Nebenstämme) behält oder einbüßt. Sollte es seine Affinität auch gegen die Nebenstämme bewahren, so kommen als Erklärung dieser Tatsache zwei Möglichkeiten in Betracht. Einmal könnten auf dem Zuchtstamme gegen diesen unwirksame Lysateinheiten in saprophytischer Art mitwuchern. Solche sich saprophytisch verhaltenden Einheiten könnten gegen die Nebenstämme parasitische, d. h. lytische Fähigkeiten besitzen. Diese Möglichkeit ist aber wohl auszuschließen, denn weder andere Beobachter, noch wir, haben je gesehen, daß Lysate auf Stämmen, denen gegenüber sie keinerlei schädigende Wirkung besaßen, sich fortzüchten ließen. Es bleibt zum Verständnis der Erhaltung der Wirksamkeit auch gegen die Nebenstämme also nur

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Deutung, daß jede Lysateinheit Virulenzen gegen mehrere oder alle Stämme besitzt, welche überhaupt das betreffende Filtrat anzugreifen vermag. Wir möchten solche funktionellen Einheiten einer Lysateinheit, welche sich gegen einen bestimmten Stamm in spezifischer Weise richtet, Virulenzeinheit nennen.

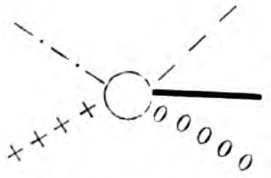
Ein Versuch wird uns nun zunächst zeigen, daß bei Fortzüchtung eines Virus auf einem bestimmten Stamm seine Virulenz auch gegen die anderen erhalten bleiben kann, aber nicht erhalten bleiben muß. Der Versuch wurde mit dem Virus 717 f ausgeführt. Dieses war vorher in 8 Passagen auf Coli 717 (Lysat 717 f C), einem Typhusstamm (Lysat 717 f Ty) und einer Y-Ruhr (Lysat 717 f Y) fortgezüchtet worden. Wodurch die lytischen Fähigkeiten dieses Filtrates gegen Coli 717, welche diesem Lysat anfänglich bekanntlich fehlten, erweckt werden konnten, soll später dargelegt werden. Folgende Tab. VI gibt über den Ausfall des Versuches Auskunft.

Tabelle VI.

Coli 717	Typhus	Y-Ruhr	Lysat
—	++++	++++	717 f Ty
—	++++	++++	717 f Y
++++	—	—	717 f C

Die Tabelle lehrt, daß die auf Typhusbakterien und Y-Ruhrbakterien fortgezüchteten Lysate auch gegen den einen Nebenstamm wirksam geblieben sind, d. h. daß die vermuteten Virulenzeinheiten vorhanden sein müssen. Wir können jedoch aus der Tatsache, daß die auf Typhusbakterien und Y-Ruhrbakterien gezüchteten Filtrate Coli-Bazillen nicht zu lösen vermögen, während das auf Coli-Bazillen fortgezüchtete Lysat keine lytischen Fähigkeiten gegen die beiden Nebenstämme mehr besitzt, noch weiteres folgern. Es erweckt dieses Verhalten nämlich den Eindruck, als könnten gewisse Virulenzeinheiten nicht gleichzeitig an einer Lysateinheit erhalten bleiben, als verdränge unter Umständen die eine die andere, als läge hier ein gewisser Antagonismus der Virulenzeinheiten vor.

Nach dieser Erkenntnis vermögen wir das Bild unserer Lysateinheiten zu vervollständigen, indem wir den korpuskulären Elementen der d'Herelleschen Filtrate eine Anzahl spezifischer Funktionen gegen bestimmte Stämme zuerkennen, welche wir als getrennte Fähigkeiten des Körperchens auffassen müssen. Symbolisch ließe sich eine solche Lysateinheit mithin als ein irgendwie geformtes Gebilde mit verschiedenen Armen darstellen. Jeder Arm entspricht einer Virulenzeinheit gegen eine bestimmte Bakterienart oder einen bestimmten Bakterienstamm.



Lysateinheit mit 5 Armen (Virulenzeinheiten).

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ziehen wir jetzt noch die Ergebnisse einiger Versuche mit Lysat 82 heran, so lassen sich noch weitere Schlüsse ableiten, welche unsere Kenntnisse vom Aufbau der Lysateinheiten weiter ausbauen. Dieses Virus wurde in 4 Passagen über den Coli-Stamm 82 rot fortgeführt und dann im Plattenversuch wiederholt gegen Coli 82 rot, Coli 82 weiß, Typhusbazillen, Fleischvergifterbazillen und Y-Ruhrbazillen geprüft. Das Resultat ist folgendes.

Tabelle VII.

Coli 82 rot	Coli 82 weiß	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Tag der Untersuchung
++++	—	+++	++++	—	2. März
++++	—	—	++++	++	5. März
++++	—	+	—	+	7. März

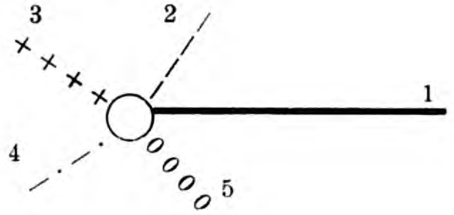
Wir sehen hier, daß die Wirkung gegen den Zuchtstamm stets eintritt, während die Lösung der Nebenstämme wechselnd ist. Daraus folgt, daß das Filtrat entweder 2 Arten von Lysateinheiten enthält, und zwar 1) solche, welche lediglich gegen den Zuchtstamm wirken, also nur einen Arm haben, und 2) solche, welche gegen Zucht- und Nebenstämme virulent sind. Diese würden mehrere Arme (Virulenzeinheiten) besitzen. Dann wäre die Zahl der Virulenzeinheiten gegen den Zuchtstamm in jeder Raumeinheit des Lysates stets größer als die Zahl der gegen die Nebenstämme gerichteten. Hieraus könnte sich die konstante Wirksamkeit gegen den Zuchtstamm ergeben. Oder der Grund für die unterschiedliche lytische Kraft gegen Zucht- und Nebenstämme ist der, daß die Virulenzeinheit jeder Lysateinheit, welche sich gegen den Zuchtstamm richtet, viel stärker ist oder in mehr Exemplaren an der Lysateinheit vorhanden ist als die gegen die Nebenstämme gerichteten. Damit würde schon eine viel geringere Zahl von Lysateinheiten genügen, um eine nachweisbare Lösung des Zuchtstammes zu ermöglichen, als sie für die Nebenstämme nötig ist. Die letztere Möglichkeit scheint uns die richtige. Denn gäbe es Lysateinheiten mit nur einer Virulenzeinheit, dann müßte irgendwann einmal ein nur gegen einen Bakterienstamm wirksames, d. h. streng spezifisches d'Herellesches Filtrat beobachtet worden sein. Das haben aber weder andere noch wir je gesehen.

Einige Worte darüber sind nun noch erforderlich, ob der differente Ausfall der Lysatprüfungen, wie er in Tabelle 4 und 5 niedergelegt ist, auf eine geringe Zahl der Lysateinheiten im Filtrat 717, oder auf ihre Verschiedenheit bei großer Zahl zurückzuführen ist. Die Virulenzeinheit gegen den Zuchtstamm (Coli 717) fehlte ja diesem Filtrat bekanntlich. Es kann also nur noch Lysateinheiten, die mit Virulenzeinheiten gegen die Nebenstämme ausgestattet waren, enthalten haben. Daß diese Lysateinheiten hinsichtlich ihrer Ausstattung mit Virulenzeinheiten noch Verschiedenheiten untereinander aufweisen sollten, dafür besitzen wir keinen Anhaltspunkt. Man ist also berechtigt anzunehmen, daß das Filtrat 717 f nur unter sich gleichartige und gleichwertige Lysateinheiten enthält. Wenn ein solches Filtrat nun einmal den zu prüfenden Stamm löst, ein anderes Mal aber nicht, so kann das nur daran liegen, daß wir einmal in den mit der Platinöse gefaßten Lysattropfen eine genügende Anzahl von Lysateinheiten mitergriffen haben, ein anderes Mal aber nicht.

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

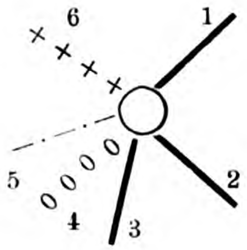
Ich fasse also zusammen: Die wirksamen Bestandteile der d'Herelleschen Filtrate sind korpuskuläre Elemente (Lysateinheiten). Diese besitzen lytische Kräfte wahrscheinlich in Form einer Produktionsfähigkeit verschiedener Fermente mit spezifischer Wirkung gegen bestimmte Bakterienarten oder Stämme. Wir nennen diese funktionellen Einheiten Virulenzeinheiten. Bei der Fortzüchtung eines Lysates auf ein und demselben Stamm (Zuchtstamm) wird die Virulenzeinheit gegen diesen Stamm besonders kräftig (hypertrophisch), oder sie tritt in mehreren Exemplaren an der Lysateinheit auf. Die Virulenzeinheiten gegen die anderen lösbaren Stämme aber (Nebenstämme) bleiben schwächer, sie atrophieren. Diese Verhältnisse lassen sich bildlich so veranschaulichen, daß wir der Lysateinheit einen langen und mehrere kurze Arme, oder zahlreiche Arme solcher Art, welche als gegen den Zuchtstamm gerichtet anzusehen sind, bei nur je einem, der gegen je einen Nebenstamm wirkt, anzeichnen. Das Bild würde also so

2—5 kurze Arme gegen Nebenstämme



langer Arm gegen Zuchtstamm

oder so:



1—3 Arme gegen Zuchtstamm

4–6 Arme gegen Nebenstämme

aussehen.

Es ist jetzt noch eine Aufklärung darüber nötig, wie es kam, daß das stets als unwirksam gegen Coli 717 befundene Lysat 717 f Wirksamkeit gegen seinen Eigenstamm gewann. Es wurde folgender Versuch ausgeführt: Zu je einer Bouillonemulsion von Coli 717 und Y Ruhrbazillen (10 ccm) wurden vom Lysat 717 f 0,5 ccm hinzugefügt und damit ein periodischer Versuch angestellt. Hierbei ergaben alle von der Coli-Bouillonkultur vorgenommenen Abimpfungen vollkommene Wirkungslosigkeit des Virus, während die sofort nach dem Lysatzusatz von der Y-Ruhrbouillonkultur vorgenommene Aussaat auf eine Agarplatte eine etwa pfennigstückgroße sterile Stelle aufwies. Alle anderen Proben des Röhrchens mit Ruhrbazillen zeigten aber auch dichten, unversehrten Rasen. Nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt wurden die beiden dicht bewachsenen Bouillonkulturen filtriert und im Plattenversuch gegen Coli 717, Kruse-Ruhrbazillen, Typhusbazillen, Fleischvergifterbazillen, Paratyphus B-Bazillen, Flexner-Ruhrbazillen und Y-Ruhrbazillen geprüft. Das Filtrat des mit Coli-Bazillen beschickten Röhrchens war in allen Fällen wirkungslos; das Filtrat des mit Y-Ruhrbazillen beimpften Röhrchens aber zeigte starke lytische Fähigkeiten gegen Coli 717,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jedoch außerdem gegen keinen anderen Stamm auch gegen Y-Ruhrbazillen nicht! Das war ein ganz überraschendes Ergebnis! Die Lösungsfähigkeit gegen Coli 717, die dem Lysat bisher fehlte, flackerte plötzlich empor. Wir nannten dieses neue Filtrat 717 f C. Mit ihm wurden erneute Bouillonpassagen über Y-Ruhrbazillen angestellt. Eine Wirkung oder Vermehrung trat aber nicht mehr ein. Das neue Filtrat hatte mithin seine lytischen Fähigkeiten den Y-Ruhrbazillen gegenüber, trotzdem diese als Zuchtstamm benutzt wurden, vollkommen verloren. Auch die Lösungskraft gegen Kruse-Ruhrbazillen, Typhusbazillen und Fleischvergifterbazillen, die ja das Ausgangslysat 717 f besaß, blieb aus. Diese Virulenzeinheiten schienen also mit dem Emporbrechen der neuen Virulenzeinheit gegen Coli 717 erloschen zu sein.

Im Anschluß daran wurde das Lysat 717 f in nachstehender Weise weiter untersucht. Ein zunächst nochmals angestellter Plattenversuch mit ihm ergab nachstehendes Resultat:

Tabelle VIII.

Coli 717	Kruse-Ruhr	Typhus	Paratyphus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Flexner-Ruhr
—	—	++++	—	++	+++	—

Die mit Typhusbazillen, Y-Ruhrbazillen und Coli 717 beschickten Platten wurden mit etwa 25 ccm Bouillon abgespült und die Bouillonemulsion dann filtriert. Vom Filtrat wurden je 1 ccm auf eine Petri-Schale mit Drigalski-Agar mit dem Spatel ausgestrichen, die Oberfläche der Platte im Faust-Heimschen Apparat getrocknet und dann darauf der entsprechende Stamm ausgesät. (Wir nennen das Filtrat von der mit Typhusbazillen bewachsenen Platte 717 f Ty, das von der mit Y-Ruhrbazillen bewachsenen Platte 717 f Y und das von der mit Coli 717 bewachsenen Platte 717 ff).

Tabelle IX.

717 f Ty	717 f Y	717 ff	Filtrat
Typhus	Y-Ruhr	Coli 717	Stamm
++++	++++	—	Wirkung

Außerdem wurde noch 1 ccm Lysat 717 f auf eine ebensolche Platte ausgespatelt und mit Coli 717 beimpft. Diese Platte ließ wiederum keinerlei Wirkung des Lysates erkennen. Hierdurch tritt erneut die absolute Wirkungslosigkeit von Lysat 717 f gegen Coli 717 hervor. Anderseits zeigt die zuletzt eingefügte Tabelle IX, daß die Fortzüchtung dieses Lysates auf Typhusbazillen und Y-Ruhrbazillen leicht gelingt. — Das Lysat 717 f C, ferner Lysat 717 f Ty und 717 f Y wurden nun noch achtmal vermittels der geschilderten Versuchsanordnung, d. h. auf der Platte fortgezüchtet und dann zu dem in Tabelle VI beschriebenen Experiment verwandt.

Dieser vorhin geschilderte Versuch, durch welchen das Lysat 717 f plötzlich lytische Fähigkeit gegen Coli 717 erhielt, führt uns das plötzliche Hervorbrechen einer bis dahin fehlenden (latenten) Eigenschaft einer Lysateinheit bei gleichzeitigem Verschwinden vorher bestehender

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

vor Augen. Eine Erklärung läßt sich für diese erstaunliche Erscheinung zurzeit noch nicht geben. Wir können nur die Tatsache registrieren, daß eine bis dahin vorhandene Virulenzeinheit bei Einwirkung auf den homologen Stamm plötzlich verschwindet und ebenso die Virulenzeinheiten gegen die Nebenstämme, während dafür ebenso plötzlich eine neue hervorbricht. Es scheint so, als sei die neue Einheit latent gewesen, als sei ihr Aktivwerden durch die bestehenden verhindert gewesen. Wollen wir diesen Vorgang dem Verständnis näherbringen, so könnte man sagen, daß die Virulenzeinheit gegen Y-Ruhrbazillen durch Gegenstoffe resistenter Keime des Ruhrstammes unterdrückt wurde, und daß an Stelle der gelähmten die bisher latente Einheit gegen Coli 717 entsprang, die dann auch die anderen Virulenzeinheiten überwucherte.

Es bleibt uns jetzt noch die Aufgabe, für die scheinbar paradoxe Erscheinung, daß wir aus der Bouillonkultur der Normalform von Coli 717 seinerzeit ein gegen den Eigenstamm unwirksames Lysat (717 f) gewannen, eine Deutung zu finden. Das der Normalform bei der Einsaat in die Bouillon anhaftende Virus muß anfangs selbstredend gegen Coli 717 wirksam gewesen sein, sonst hatte es sich auf diesem Stamm nicht vermehren können. Für eine beträchtliche Vermehrung spricht aber der offenbar starke Virusgehalt des Filtrates 717 f. Der Vorgang spielte sich mutmaßlich so ab, daß das hauptsächlich gegen Coli 717 und nebenher gegen Typhusbazillen, Y Ruhrbazillen usw. wirksame Agens sich zunächst auf Kosten von Coli 717 vermehrte. Die nicht der Vernichtung anheimfallenden Coli-Keime (die resistenten) produzierten reichlich gegen das Virus gerichtete Gegenkörper. Diese vermochten es zwar nicht abzutöten, doch zerstörten sie seine gegen Coli 717 gerichteten Virulenzeinheiten, so daß das später gewonnene Filtrat wohl gegen die Nebenstämme aber nicht mehr gegen den Zuchtstamm lytische Fähigkeiten besaß. Bei einer Passage über Y-Ruhrbazillen brach dann, wie im vorigen Absatz geschildert, aus den wahrscheinlich gleichen wie jetzt genannten Gründen die verloren gegangene, aber noch latente Virulenzeinheit gegen Coli 717 wieder hervor. Wir werden solch Wiederauftreten scheinbar fehlender (durch chemische Mittel gelähmter) Virulenzeinheiten später noch kennen lernen. — Es sei hier betont, daß durch diese Ausführungen das früher gegen Jöttens Auffassung vorgebrachte Argument, daß Lysat 717 f ein Autolysin gewesen sein müßte, das den Stamm, von dem es gewonnen war, nicht zu lösen vermochte, nicht berührt wird. Denn solch ein Verlorengehen und Wiedererscheinen von lytischen Fähigkeiten ist selbstredend bei einem Ferment oder Lysin nicht möglich. Daher ist der vorgebrachte Gedankengang auch auf ein Ferment oder Lysin gar nicht anwendbar. Der Vorgang bleibt vielmehr bei Anwendung der Autolysintheorie vollkommen unerklärlich.

Unsere Beweisführung, welche das Vorhandensein der Virulenzeinheiten ergab, war ein Indizienbeweis oder eine Folgerung, welche sich durch Ausschließung aller anderen Möglichkeiten ergab. Bei der Wichtigkeit der aufgestellten Behauptung schien es uns aber nötig, noch weitere Beweismomente für ihre Richtigkeit zu erbringen. Der Weg, der für diese Aufgabe beschreitbar zu sein versprach, war der, zu versuchen, die einzelnen hypothetischen Virulenzeinheiten getrennt voneinander auszuschalten. Gelang es, die eine oder andere lytische Fähigkeit des Filtrates zu unterdrücken, während die anderen teilweise oder alle er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

halten blieben oder alle auszuschalten bei Erhaltung nur einer, so war damit die isolierte und isolierbare Existenzform der lytischen Kräfte, welche sich gegen die verschiedenen Bakterienarten richteten, erwiesen. Da es zu erwarten war, daß solche Trennung nur durch fein abgestimmte und abstimmbare Reize ausgeführt werden konnte, so mußten wir solche Schädigungen wählen, welche quantitativ, qualitativ und zeitlich in genauester Weise dosiert werden konnten. Zu diesem Verfahren schienen uns Säuren und Alkalien geeignet. Sie konnten nach Art und Stärke verändert werden, und ebenso war ihre Wirkungszeit genau abgrenzbar, insofern durch Neutralisation ihr Einfluß fast augenblicklich unterbrochen werden konnte.

Die angewandte Versuchsanordnung war folgende: Es wurde zunächst eine größere Menge (400 ccm) des Virus 82 f hergestellt, das 4mal über Coli 82 rot passiert war. Der Zweck dieser Massenherstellung war der, alle Versuche mit dem gleichen Lysat derselben Passage ausführen zu können, denn nur so konnten wir brauchbare Vergleichsergebnisse erwarten. Zu je 1 ccm dieses Filtrates kamen dann jeweils die Säuren oder Alkalien. Die Mischung wurde in den Brutschrank gestellt und dann nach verschiedenen Zeiten neutralisiert. Zur Neutralisation der Säuren wurde in allen Fällen 33-proz. Kalilauge verwandt. Die Probe auf Wirksamkeit der so vorbehandelten Filtrate wurde jedesmal durch einen Plattenversuch gegen Coli 82 rot, Typhusbazillen, Fleischvergifterbazillen und Y-Ruhrbazillen durchgeführt.

Die ersten Versuche wurden mit Schwefelsäure angestellt. Die Tab. X gibt über den Ausfall Auskunft.

Tabelle X.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Zeit der Säurewirkung
—	—	—	++++	10 Min.
—	—	—	++++	2 Std.
—	—	—	++++	6 „
—	—	—	++++	8 „
—	—	—	++	16 „
—	—	—	+	24 „

Schwefelsäure 25-proz. Davon 3 Tropfen zu je 1,— ccm Lysat.

Das Ergebnis ist hier ein ganz eindeutiges. Es gelang, alle lytischen Kräfte des Filtrates mit Ausnahme der gegen Y-Ruhrbazillen gerichteten auszuschalten. Es sei hinzugefügt, daß die lytische Einheit gegen Y-Ruhrbazillen sogar einen Zusatz von 1,6 ccm H_2SO_4 25-proz. zu einem Kubikzentimeter Lysat bei 16 Std. Wirkungsdauer erträgt, ohne zu verschwinden.

Wir untersuchten nunmehr den Einfluß der Kalilauge.

Tabelle XI.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Stärke der Lauge
—	—	—	++++	1 Tropfen
—	—	—	—	3 „

Kalilauge 33-proz. Davon 1 oder 3 Tropfen in 1,— ccm Lysat. Wirkungszeit 6 Std.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch hier erweist sich die Virulenzeinheit gegen Y-Ruhrbazillen als die resistenteste.

Diese Ergebnisse setzen etwas in Erstaunen, da mit einem gewissen Recht zu erwarten war, daß die gegen den Zuchtstamm gerichteten Kräfte die widerstandsfähigsten sein würden. Auch gab die gleichsinnige Wirkung der Schwefelsäure und der Kalilauge zu der Vermutung Anlaß, daß das bei der Neutralisation entstehende Kaliumsulfat der wirksame Bestandteil des Versuches war. Hatten doch die Röhrchen mit den Lysaten nach der Neutralisation noch jeweils $^1/_2$—1 Std. gestanden, bevor sie auf die Platten aufgetropft wurden. Um diese Möglichkeit auszuschließen, stellten wir uns durch Vermischen von Schwefelsäure und Kalilauge Kaliumsulfat her und setzten davon zu je 1 ccm Lysat so viel zu, bis ein Bodensatz entstand. Diese Mischung blieb $2^1/_2$ und $6^1/_2$ Std. im Brutschrank und wurde dann im Plattenversuch geprüft. Folgende Tab. XII zeigt den Ausfall.

Tabelle XII.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Wirkungszeit
±	±	+++	+	$2^1/_2$ Std.
+++	+++	+++	±	$6^1/_2$ „

Zusatz von Kaliumsulfat im Ueberschuß zu je 1,— ccm Lysat.

Wir bemerken, daß die Wirkung dieses Salzes sehr gering ist und gänzlich anders als die der Säure oder der Lauge. Die vorher festgestellten Ergebnisse waren also zweifellos die Folgen des Einflusses der Schwefelsäure und der Kalilauge.

Ein weiterer gleichsinniger Versuch wurde mit Essigsäure angestellt und ergab im wesentlichen den gleichen Ausfall wie der mit Schwefelsäure (Tab. XIII).

Tabelle XIII.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Menge der Säure	Wirkungszeit
++++	—	—	+++	3 Tropfen	$3^1/_2$ Std.
—	—	—	+++	6 „	$3^1/_2$ „
—	—	—	+++	3 „	7 „
—	—	—	+++	6 „	7 „

Essigsäure 25-proz. Davon zu 1,— ccm Lysat 3 oder 6 Tropfen.

Es war uns nunmehr viel daran gelegen, auch eine andere Virulenzeinheit als die gegen Y-Ruhrbazillen gerichtete zu erhalten bei Aus-

Tabelle XIV.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Menge der Säure	Wirkungszeit
++++	—	—	++++	2 Tropfen	3 Std.
++++	—	—	—	2 „	7 „
++	—	—	—	2 „	$15^1/_4$ „
—	—	—	—	2 „	$24^1/_4$ „

Salpetersäure 2,— Proz. Davon je 2 Tropfen zugesetzt zu 1,— ccm Lysat.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schaltung der übrigen. Dies glückte uns mit Salpetersäure und Salzsäure (Tab. XIV und XV).

Tabelle XV.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Menge der Säure	Wirkungszeit
++++	—	—	—	4 Tropfen	$2^1/_2$ Std.
—	—	—	—	5 „	$2^1/_2$ „

Salzsäure 2,6 Proz. Davon 4 oder 5 Tropfen zu 1,— ccm Lysat hinzugefügt.

Diese Tabellen zeigen die Auslöschung aller lytischen Kräfte des Filtrates bei einer bestimmten Konzentration und Dauer der Einwirkung der hier verwandten Säuren abgesehen von der gegen den Zuchtstamm Coli 82 rot gerichteten Virulenzeinheit.

Wir können hiermit unsere vorhin gestellte Aufgabe der Schädigung einzelner Funktionen des Virus unabhängig voneinander und der damit einhergehenden Isolierung der nicht betroffenen als gelöst ansehen. Dadurch ist von neuem der Beweis erbracht, daß diese Kräfte als getrennte und trennbare Funktionseinheiten vorhanden sind und insofern mit Recht als solche von uns bezeichnet werden.

Es blieb jetzt noch zu erwägen, ob diese chemischen Schädigungen eine dauernde d. h. vererbbare Verstümmelung der Lysateinheiten zur Folge hatten, oder ob sie nur das der Säurewirkung ausgesetzte Individuum erfaßten. Zur Entscheidung dieser Frage stellten wir noch einmal einen Versuch mit Schwefelsäure 25-proz. an (Tab. XVI).

Tabelle XVI.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Menge der Säure
—	—	—	++++	0,4 ccm H_2SO_4 25 Proz.
—	—	—	++++	0,6 „ „ 25 „
—	—	—	++++	1,6 „ „ 25 „

Schwefelsäure 25 Proz. Davon zu je 1,— ccm Lysat 0,4—0,6—1,6 ccm.

Die mit Y-Ruhr bewachsenen Platten, auf denen allein eine Vermehrung und Wirkung des Virus eingetreten war, wurde mit Bouillon abgespült. Die filtrierte Emulsion wurde dann gegen alle 4 Stämme auf Wirksamkeit untersucht (Tab. XVII).

Tabelle XVII.

Coli 82 rot	Typhus	Fleischvergifter	Y-Ruhr	Filtrat von Ruhrplatten mit Säure-Lysat
++++	++++	++++	++++	0,4 ccm
++++	++++	++++	++++	0,6 „
++++	++++	++++	++++	1,6 „

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieser Versuch ergibt wieder volle lytische Kraft des angewandten Filtrates gegen alle empfindlichen Stämme. Das durch Säure geschädigte Ausgangslysat 82 f, welches sofort nach der Säurewirkung unwirksam gegen Coli-Bazillen, Typhusbazillen und Fleischvergifterbazillen war, hat mithin nach einer Passage über Y-Ruhr d. h. den einzigen Stamm, den es noch anzugreifen vermochte, seine sämtlichen lytischen Fähigkeiten wiedergewonnen. Die Lysateinheiten wurden also durch die Säure gleichsam nur phänotypisch aber nicht genotypisch geschädigt. Denn die der verstümmelten Generation folgenden Generationen zeigen wieder alle Eigenschaften der früheren unbeschädigten.

Diese Erkenntnis ist ein neues starkes Beweismoment für unsere schon früher dargelegte Auffassung, daß die Wirkungsbreite der d'Herelleschen Filtrate nicht auf einer Mischung verschiedener Bakteriophagenarten, welche sich jeweils gegen einen bestimmten (homologen) Bakterienstamm richten, beruht, sondern auf der Polyvalenz der unter sich gleichen Einheiten. Denn wären durch die Säurewirkung bestimmte Arten der Lysateinheiten abgetötet, oder so schwer geschädigt worden, daß sie dem homologen Bakterienstamm nichts mehr anzuhaben vermochten, so konnten sie sich in einer Passage über einen heterologen Stamm (Y-Ruhrbazillen) erst recht nicht vermehren. Und wenn sie sich auch nicht vermehrten, so konnten sie durch die vorgenommene Prozedur auch keine Wirksamkeit wieder erhalten haben. Sie erscheinen trotzdem, wie dargelegt, nach der Passage in alter Kraft alle wieder. Dieses Wiederauftreten der unterdrückten Funktionen ist vielmehr nur so deutbar, daß eine Virusart, die der Träger aller lytischen Kräfte ist, partiell geschädigt wurde. Die gesetzte Schädigung betraf aber nur das direkt betroffene Individuum, bei dessen Vermehrung wieder vollwertige Exemplare auftraten.

Wir möchten es nunmehr wagen, auf Grund der in allen diesen Untersuchungen festgestellten Eigenschaften des d'Herelleschen Virus zu einem einigermaßen abschließenden Urteil über das Wesen unseres Untersuchungsobjektes zu gelangen. Die erkannten Eigenschaften der Lysate oder ihrer wirksamen Bestandteile sind folgende: Das Agens ist durch bakteriendichte Filter filtrierbar, es ist ultravisibel, es vermehrt sich, bei der Vermehrung zerstört es die empfindlichen Bakterien ganz oder teilweise (wahrscheinlich durch Fermente), es ist korpuskulär, die korpuskulären Elemente sind polyvalent, durch chemische Mittel kann man die Polyvalenz der Lysateinheiten teilweise aufheben, es besitzt einen Stoffwechsel.

Die entscheidende Frage, vor die wir uns nun zunächst gestellt sehen, ist die nach der Belebtheit oder Unbelebtheit des Virus; es ist die Klärung, ob wir ein Ferment, das sich zu vermehren vermag, oder ein belebtes Gebilde vor uns haben. Die verschiedenen, sich widersprechenden Beantwortungen, welche hier vorliegen, deuten auf die Schwierigkeiten, die der Lösung des Problems entgegenstehen. Die Schwierigkeiten beginnen beim ersten Schritt der kritischen Abwägung der Merkmale des Agens in der genannten Richtung. Wir sollen feststellen, ob es belebt sei oder nicht, und besitzen doch keine eindeutige oder allgemein anerkannte Definition des Lebendigen oder des Lebens. Es läßt sich nur sagen, daß als die wesentlichsten Eigenschaften des Lebendigen im Gegensatz zu den Merkmalen der unorganischen oder toten Naturgebilde eines Teiles die Konstanz der Form bei dauerndem

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wechsel des Stoffes (Schopenhauer) und andererseits das Zweckmäßige des Aufbaues und die funktionelle Harmonie der Teile im Dienste des Ganzen angesehen wird. Ranke schreibt in diesem Sinne, das allgemeinste Merkmal des Lebens sei das Zweckmäßige aller sich am lebenden Organismus vollziehenden Vorgänge, ihre Zielstrebigkeit, ihre Ganzheitsbeziehung.

Wir sehen sofort, daß wir mit diesem Maßstabe an unser Objekt nicht herankommen. Um ihn anlegen zu können, müßten wir erheblich größere Einzelkenntnisse über unseren Untersuchungsgegenstand besitzen. Es kann daher die Frage zunächst nur so formuliert werden: Woher kommt es, daß die Unterscheidung eines Fermentes von der lebenden Substanz in diesem Falle solche Schwierigkeiten bereitet? Der Grund dafür ist einmal der, daß die Anhänger der Fermenttheorie[1]) (Otto, Seiffert, Jötten u. a.) behaupten, daß dieses Ferment beim Wirkungsvorgange auf die eine oder andere Weise neu entstünde. Seiffert z. B. schreibt: „Von vornherein sind die Bakterien befähigt, Fermente zu produzieren, die zur eigenen Auflösung führen (vergl. die Untersuchungen Kruses an alternden Stämmen). Normalerweise bleibt jedoch in der jungen Kultur die Auflösung aus. Sie tritt erst dann in Erscheinung, wenn entsprechende Fermente den Bakterien von außen her zugeführt werden." Wir haben nun aber einwandfrei gezeigt, daß diese angeblichen von den Bakterien produzierten Fermente auch in den ältesten Kulturen nie manifest werden, sondern daß die Filtrate dieser Kulturen nur dann lytische Eigenschaften besitzen, wenn die eingesäten Bakterien aus einem virushaltigen Milieu stammen, d. h. wenn sie von außen mit Virus beladen wurden. Bei Anwendung von Seifferts Auslegung auf diese Tatsache müßte es sich hier um ein in den Bakterien entstehendes Ferment handeln, das von selbst nie in Aktion tritt, sondern nur dann, wenn man ein gleiches oder ähnliches zu den Bakterien hinzufügt. Wir sehen nun aber nicht ein, warum man von einer Substanz, die sich nur dann nachweisen läßt (augenscheinlich deshalb, weil sie nur dann vorhanden ist), wenn man sie zu einer zweiten hinzufügt, annehmen soll, daß sie in diesem 2. Körper auch schon vorher enthalten gewesen sei oder aus ihm entstünde. Diese Annahme ist ebenso überflüssig wie unbeweisbar und unbewiesen. Abgesehen davon, scheint uns die Theorie von Seiffert noch einen anderen Fehler zu enthalten. Der Autor erklärt, daß die Bakterien durch ein in ihnen entstehendes Ferment aufgelöst würden. Diese Autolyse träte nicht spontan ein, sondern müsse durch den Zusatz eines d'Herelleschen Lysates ausgelöst werden (exogene Autolyse). Es erhebt sich nun die Frage: Wie soll dann erstmalig eine solche exogene Autolyse bei irgendeiner Bakterienart in Gang gekommen sein, als noch kein d'Herellesches Lysat vorhanden war, welches durch diese erstmalige Autolyse erst entstehen mußte? Soll diese erste exogene Autolyse auf andere Art bewirkt worden sein als alle späteren, die sich dann in unendlicher Folge daran anschlossen? — Aehnlich aber noch unbestimmter äußert sich Otto. Er sagt, daß durch irgendeine Schädigung beim Wachstum von Bakterien Rezeptoren abgesprengt würden, welche sich

1) Nach dieser Anschauung ist das d'Herellesche Virus kein belebter Organismus, wie der Entdecker annimmt, sondern ein von den Bakterien produziertes Ferment.

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

an andere Nahrung aufnehmende Keime anlagern und dadurch den Anstoß zur Autolyse der letztgenannten geben. Bei näherer Betrachtung dieser Darstellung vermißt man jede überzeugende Aufklärung über nachstehende Punkte: Welcher Art sollten diese Schädigungen sein, die Rezeptoren abzusprengen vermögen? Wie kommt es, daß sich diese Rezeptoren an andere Bakterien und gerade an solche, welche bei der Nahrungsaufnahme befindlich sind, anlagern? Was berechtigt dazu zu behaupten, daß Rezeptoren eine Autolyse auslösen können? Abgesehen von der Ungeklärtheit der genannten Fragen, zeichnet sich diese Theorie durch die Menge der Hilfshypothesen aus. — Bail vertritt mit seiner Splittertheorie eine sich von den Anschauungen der übrigen Forscher abhebende Meinung. Er lehrt, daß die Bakterien bei der Lösung in feinste lebensfähige Splitter zerfallen, welche ihrerseits wiederum empfindliche Bekterienarten in ebensolch kleinste Teilchen aufzulösen vermögen. Diese Theorie läßt sich zurzeit experimentell weder beweisen noch widerlegen. Man kann sie wohl als einen Kompromiß zwischen der Fermenttheorie und der Bakteriophagentheorie von d'Herelle bezeichnen. Denn die lebensfähigen Splitter, welche den Bakterien Stoffe entziehen, ähneln doch sehr den belebten Bakteriophagen. Ihre Abstammung von den Bakterien aber macht der Fermenttheorie Konzessionen.

Des weiteren wird die Entscheidung — ob belebt oder unbelebt — deshalb so schwer, weil das Ferment das häufigste und allgemeinste Instrument ist, dessen sich die morphologische Lebenseinheit d. h. die Zelle, bedient, sei es um auf ihre Umgebung sei es um im eigenen Körper zu wirken, und weil wir Fermente anders denn als Zellprodukte nicht kennen (Katalysatoren kann man wohl mit Fermenten vergleichen, doch sind sie offenbar nicht dasselbe). Studieren wir also die Funktionen der Zelle und charakterisieren wir sie dann durch ihre Funktionen, so werden wir als eins ihrer hervorstechendsten Merkmale immer die Produktion von Fermenten und dann die Leistungen dieser Fermente nennen müssen. Damit wird uns ein Vorgang, der uns als ein fermentativer erscheint, einmal zum Wahrzeichen des Vorhandenseins eines Fermentes und dann mittelbar zum Zeugen für den Produzenten dieses Fermentes, d. h. eine Zelle.

Mußten wir nun die Abstammung des d'Herelleschen Virus aus der Bakterienzelle im Sinne der Ferment- oder Autolysintheorie ablehnen, so sind wir genötigt, da auch wir die mehr oder weniger weitgehende Zerstörung der Bakterien durch das Virus auf eine Fermentwirkung zurückführen, einen anderen Organismus als Produzenten dieses Fermentes anzunehmen. Der direkte optische Nachweis eines solchen Organismus in den Lysaten ist aber bisher nicht gelungen Das beweist nichts gegen seine Existenz. Wir haben es wahrscheinlich mit einem Körper, dessen Größe unterhalb des Auflösungsvermögens unserer optischen Instrumente liegt, zu tun.

Jetzt ließe sich nur noch einwenden, daß das d'Herellesche Virus ein Ferment sei, das weder von den Bakterien noch von einem ultravisiblen Organismus herrührt, das vielmehr dem infizierten Metazoenkörper entstammt, aus dem wir auch die Bakterien kultivierten. Dann würden wir also kein autolytisches Ferment mehr vor uns haben, sondern ein von einem anderen Organismus abstammendes, das sich auf dem Substrat, welches es löst, bei der Lösung

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

vermehrt. Dieser Vorgang wäre zum mindesten ein sehr erstaunliches Novum.

Aber zeigt nicht das d'Herellesche Filtrat Leistungen, die ein Ferment ohne die Gegenwart eines lebenden Organismus als seines Produzenten gar nicht zu vollziehen vermag? Wir erinnern uns unserer früheren Feststellung, daß das Virus eines Stoffwechsels fähig sein muß. Dieser Prozeß ist nun in einem solchen Maße charakteristisch für den Lebensvorgang d. h. für die lebendige Zelle, daß ihn die Physiologen bei der Aufzählung der Fähigkeiten des lebenden Protoplasmas stets an den Anfang stellen (Landois, Tigerstedt, Schenk und Gürber). — Als weiteres Charakteristikum der lebenden Substanz nennt Doflein ihre Fortpflanzung und ihr beschränktes Wachstum. Auch diese beiden Eigenschaften weist das d'Herellesche Virus auf. Ueber seine Vermehrung besteht ja bekanntlich kein Zweifel mehr. Daß ferner auch bestimmte Ausmaße von den korpuskulären Grundelementen der Lysate nicht überschritten werden, dafür spricht die nirgends angefochtene Tatsache ihrer ultravisiblen Größe. Nur d'Herelle will in den Bakterien kurz vor ihrer Auflösung durch das Virus feinste Granula gesehen haben, welche er für den Bakteriophagen zu halten geneigt ist. Im Falle der Richtigkeit dieser Beobachtung und des Zutreffens ihrer Deutung hätten wir es hier nur mit einem bestimmten Stadium in der Bakteriophagenentwicklung zu tun, während das Virus in allen anderen Phasen seiner Existenz nicht in den Bereich des mikroskopisch Wahrnehmbaren gelangt.

Diese drei Fähigkeiten: Stoffwechsel, Vermehrung und beschränktes Wachstum sind stärkste Argumente für die Belebtheit des Virus. Gibt es demgegenüber irgendwelche Tatsachen, welche gegen die Natur des d'Herelleschen Agens als eines lebenden Substrates sprechen? Unter den in der Literatur genannten finden wir keine und auch unter den von uns beobachteten nicht. Wir halten es daher auf Grund der bisher erforschten Eigenschaften des d'Herelleschen Agens für recht wahrscheinlich, daß das Virus als belebt anzusehen ist. Es ist mutmaßlich ein ultravisibler Organismus, der auf Bakterien parasitiert und sie wahrscheinlich durch Fermente mehr oder weniger weitgehend zerstört. Eine endgültige Entscheidung muß aber weiterer experimenteller Forschung vorbehalten bleiben.

Ergebnisse.

1) Bei wiederholter Abimpfung auf Agarplatten aus einer Bouillonbakterienemulsion, der ein d'Herellesches Virus hinzugefügt ist, und die aus lysosensiblen Bakterien besteht, entstehen in typischer Folge wechselnde Kolonienformen bei gleichzeitigem Ab- und Anstieg der Zahl der Kolonien. — 2) Während der Abnahme der Kolonienzahl bei der unter 1) genannten Versuchsanordnung bilden sich Normal- und Flatterformen (bis etwa 6 Std. nach Viruszusatz). Beim Anstieg der Kolonienzahl nach scheinbarer Sterilität entstehen nur Normalformen. — 3) Die Flatter- und Normalformen, welche während der Abnahme der Kolonienzahl bei der unter 1) genannten Versuchsanordnung auftreten, sind virus-

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

beladen; die Normalformen, welche beim Anstieg der Kolonienzahl erscheinen, sind resistent und virusfrei. — 4) Die virusbeladenen Normalformen nehmen ihren Ausgang von einem virusbehafteten Keim. Die Flatterformen entspringen von einem virusfreien Bakterium. Die von diesem Keim abstammende Kolonie stößt bei ihrer Ausbreitung auf Virusteilchen und erhält dadurch die Einkerbungen. — 5) Das Virus vermag sich nur auf lebenden, in Teilung begriffenen Bakterien zu vermehren. Auf ruhenden oder toten Keimen oder Stoffwechselprodukten der Bakterien findet keine Virusvermehrung statt. — 6) Manche Virusarten lösen die Bakterien nicht auf. Sie laugen sie gleichsam nur aus. Bei diesem Vorgang findet, obgleich keinerlei Abnahme der Keimzahl eintritt, eine starke Aufhellung der Bakterienemulsion statt. — 7) Beschreibung eines neuen Zählverfahrens für Bakterien. — 8) Die Gewinnung des Virus gelingt (abgesehen von virushaltigen Substanzen) nur aus solchen Bakterienkulturen, welche aus virushaltiger Umgebung stammen, d. h. welche virusbeladen sind. Die Ansicht von Jötten, daß das d'Herellesche Agens aus alten virusfreien Kulturen gewonnen werden könne, und daß es ein Ferment oder Lysin sei, das von den Bakterien abstammt, ist abzulehnen. — 9) Das Virus ist ein Fremdkörper, welcher sich auf Kosten der Bakterien oder Bakterien und des Nährbodens vermehrt. — 10) Dieser Fremdkörper muß eines Stoffwechsels fähig sein. — 11) Die wirksamen Bestandteile der d'Herelleschen Filtrate sind korpuskulärer Art. — 12) Diese Körperchen (Lysateinheiten) besitzen lytische Fähigkeiten gegen eine Mehrzahl von Bakterienstämmen. Die lytischen Eigenschaften gegen die einzelnen Bakterienarten sind getrennte und trennbare Qualitäten der Lysateinheiten. (Wir nennen sie Virulenzeinheiten.) — 13) Wir können uns symbolisch den Bakteriophagen als ein körperliches Gebilde, mit einer Anzahl von Armen (Virulenzeinheiten), welche die einzelnen lytischen Kräfte bezeichnen, ausgestattet, vorstellen. Die Virulenzeinheiten, welche sich gegen den zur Passage benutzten Stamm richten, sind stärker ausgebildet als die, welche gegen die andern angreifbaren Stämme wirken. — 14) Die einzelnen Arme (Virulenzeinheiten) des Virus lassen sich einzeln, getrennt voneinander durch Chemikalien lähmen. — 15) Lange latent gebliebene Virulenzeinheiten können plötzlich hervorbrechen. Dafür können andere bis dahin aktive verschwinden. Es scheint ein gewisser Antagonismus der Virulenzeinheiten zu bestehen. — 16) In späteren Generationen treten die durch Chemikalien gelähmten Virulenzeinheiten wieder hervor. — 17) Das Virus ist auf Grund aller bisher mit Sicherheit beobachteten Eigenschaften mit Wahrscheinlichkeit als belebtes Gebilde zu bezeichnen, welches durch Fermente empfindliche Bakterien ganz oder teilweise zerstört. Eine endgültige Entscheidung muß aber weiterer Forschung vorbehalten bleiben.

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Literaturverzeichnis.

1) Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1916. — 2) Ficker, Ztschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898. S. 1. — 3) Gildemeister, Berl. Klin. Wo. 1922. S. 1355. — 4) d'Herelle, Der Bakteriophage. Uebersetzt von Pfreimbter, Sell, Pistorius. Braunschweig (Vieweg & Sohn) 1922. — 5) Jötten, Klin. Wo. Jhrg. 1. Nr. 44. — 6) Landois, Lehrbuch d. Physiologie des Menschen. 1905. — 7) Otto, Ztschr. f. Hyg. Bd. 96. Heft 1. S. 118. — 8) Prausnitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. Beih. S. 187. — 9) Pfreimbter, Münch. med. Wo. 1922. S. 495. — 10) Schenk u. Gürber, Leitf. d. Physiologie d. Menschen. 1909. — 11) Schopenhauer, Die Welt als Wille und Vorstellung. Ergänzungen z. 2. Buch, Kapit. 23. — 12) Seiffert, Ztschr. f. Hyg. Bd. 98. S. 482; Med. Klin. 1922. S. 997—1093—1121. — 13) Tigerstedt, Lehrbuch d. Physiologie des Menschen. 1909. — 14) Otto, Ztschr. f. ärztl. Mittlg. 1923. S. 253. — 15) Bail, Wien. klin. Wo. 1922. S. 367; 1920. S. 237. — 16) Kuttner, Proc. exper. Biol. a. Med. New York 1920—21. p. 18. — 17) Kabelik, Biologicke Listy. 1922. Nr. 3—4.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Frage der Wirkung des Harnstoffes auf Bakterien.

[Aus dem Institut für Experimentelle Therapie „Emil von Behring“, Marburg (Lahn) (Direktor: Prof. Dr. Dold).]

Von **H. Dold.**

[Herrn Prof. Dr. P. v. Baumgarten zu seinem 75. Geburtstage gewidmet.]

Die Wirkung des Harnstoffes auf Bakterien scheint bisher nur wenig untersucht worden zu sein. Capaldi und Proskauer[1]) stellten fest, daß das B. coli auf Nährböden, die Asparagin, Sukzinamid, Tyrosin, Kreatin, Glykokoll und Harnstoff als Stickstoffquelle enthielten, gut gedieh, auf Harnstoff allein gezüchtet jedoch nach 48 Std. nur eine schwche Entwicklung aufwies. Bruno Kisch[2]) studierte die Frage, ob und inwieweit der Harnstoff als Stickstoffquelle für Mikroorganismen verwendet werden könne und W. James Wilson[3]) prüfte das morphologische Verhalten der Bakterien auf harnstoffhaltigen Nährböden, wobei er das Auftreten von Involutionsformen auf derartigen Medien feststellte. Von Carl Lange wurde gelegentlich[4]) die Bemerkung gemacht, daß wir „im Harnstoff ein exquisit lyotropes Mittel besitzen, das sämtliche Bazillen inkl. Tuberkelbazillen ohne Aufhebung des antigenen Charakters auflöse“. Diese Angaben sind von Carl Bauer namentlich bezüglich der Tuberkelbazillen nachgeprüft, jedoch nicht bestätigt worden. Bauer wusch tuberkelbazillenhaltiges Sputum so lange, bis die alkalische Reaktion vollständig geschwunden war, füllte sodann das so behandelte Sputum in Röhrchen ab, versetzte es in steigender Menge bis zu 10 Proz. mit Harnstoff und beobachtete 4 Tage lang. Eine Auflösung der Tuberkelbazillen konnte hierbei nicht gesehen werden. Außerdem untersuchte er B. typhi, B. paratyphi A und B, B. coli, B. dysenteriae Flexner und Shiga-Kruse, Streptokokken, Staphylococcus pyog. aur. und Sarcina lutea. Die Nährböden (Agarplatten) bekamen einen Zusatz von 2—5 Proz. Harnstoff. Am widerstandsfähigsten zeigte sich B. paratyphi B, der noch bei 4-proz. Harnstoffzusatz ein, wenn auch spärliches,

1) Zit. nach Bruno Kisch.
2) Kisch, Bruno, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. H. 1.
3) James, Wilson W., Journ. Pathol. and Bact. Vol. 11. Nr. 6.
4) Lange, C., Serodiagnose und Blutchemismus. Klin. Woch. 1922. S. 21/22.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wachstum zeigte, während die übrigen Bakterien bei diesem und noch geringerem Harnstoffzusatz teils nicht mehr wuchsen, teils nicht mehr überimpfbar waren. Bei 5-proz. Harnstoffzugabe trat bei keinem der genannten Bakterien mehr ein Wachstum auf. Wurde der Harnstoff zu voll entwickelten Kulturen oder Bakterienaufschwemmungen hinzugefügt, so wurden die Bakterien nicht aufgelöst, wiewohl sie nach längerer Zeit ihre Lebensfähigkeit einbüßten.

Die vorliegenden Untersuchungen befassen sich zunächst mit der Frage des Verhaltens der verschiedenen Bakterienarten gegenüber konzentrierten Lösungen von Harnstoff.

Das Verhalten folgender Bakterienarten wurde untersucht: Staph. pyog. aur., albus und citreus; Streptococcus; Pneumococcus; Gonococcus; Meningococcus; B. prodigiosum; B. influenzae; B. pyocyanus; B. typhi; B. paratyphi A und B; B. Gärtner; B. alkaligenes, Mäusetyphusbazillus, Rattentyphusbazillus; B. dysenteriae Y; B. dysenteriae Flexner und Shiga-Kruse; B. coli; B. diphtheriae, Vibrio cholerae; Proteus vulgaris; B. Friedländer; B. pyosepticus; Schweinerotlaufbazillus; Monilia candida; B. subtilis; B. mycoides; B. mesentericus; B. anthracis (die letzten 4 Arten im Stadium der Sporulation).

Technik: Eine Oese der zu untersuchenden Bakterienart wurde in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt (am Boden des Röhrchens unter Vermeidung einer Zerstreuung des Materials an die Glaswand). Die Röhrchen wurden sodann in einem Wasserbad von 37° gebracht, worauf Harnstoff in Substanz bis zur Sättigung oder richtiger bis zur Uebersättigung eingetragen wurde, so daß also am Boden der Flüssigkeit stets noch etwas ungelöster Harnstoff vorhanden war. Nach Verlauf einer $^1/_2$ Std. wurde aus dem Inhalt der Röhrchen rasch je eine Oese auf ein Agarröhrchen übertragen, indem die Oese, um die Konzentration des Harnstoffes wieder herabzusetzen, in das Kondenswasser eingetaucht und dann samt dem Kondenswasser auf der Agaroberfläche ausgestrichen wurde.

Das Ergebnis, das nach 3mal 24 Std. abgelesen wurde, war: Mit Ausnahme der untersuchten sporentragenden Bakterienarten (B. subtilis, mycoides, mesentericus, anthracis) waren sämtliche Bakterienarten durch den $^1/_2$-stündigen Aufenthalt[1]) in der konzentrierten Harnstofflösung abgetötet.

Hierauf untersuchten wir die Wirkung von 50-proz. bzw. 25-proz. gesättigten Harnstofflösungen, wobei wir etwas anders verfuhren:

Die Herstellung der 50- bzw. 25-proz. Konzentration des Harnstoffes erfolgte hier in Bouillon, indem ein Teil einer mit Harnstoff gesättigten Bouillonlösung mit 1 Teil bzw. 3 Teilen gewöhnlicher Bouillon vermischt wurde. Diese 50 bzw. 25 Proz. Harnstoff enthaltenden Bouillonröhrchen wurden hierauf mit der zu untersuchenden Bakterienart reichlich beimpft; nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurde eine Ueberimpfung auf Agar vorgenommen, und nach weiteren 3mal 24 Std. festgestellt, ob Wachstum eingetreten war oder nicht.

Die in 50-proz. Harnstoffbouillon eingesäten und 24 Std. bei 37° darin gehaltenen Bakterienarten waren wiederum mit Ausnahme der untersuchten Sporenträger (B. subtilis, mycoides, mesentericus und anthracis) sämtlich abgetötet, bzw. entwicklungsunfähig geworden.

Etwas anders war das Ergebnis bei den in 25-proz. Harnstoffbouillon eingesäten Bakterien: außer den wiederholt erwähnten Sporenträgern,

1) Vermutlich genügt ein noch kürzerer Aufenthalt. Diese Frage wurde zunächst nicht weiter verfolgt.

Generated on 2019-09-15 11:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

die selbstverständlich auch diese Harnstoffkonzentration überstanden, erwiesen sich auch die untersuchten Staphylokokkenarten und der untersuchte Streptococcus unter den oben genannten Versuchsbedingungen noch als lebens- und entwicklungsfähig. Alle anderen Bakterienarten waren dagegen abgetötet.

Das unterschiedliche Verhalten des untersuchten Streptokokkus und Pneumokokkus, von denen der erstere harnstoffresistent war, letzterer dagegen nicht, veranlaßte uns noch genauer zu prüfen, ob dieses unterschiedliche Verhalten eine Regel bilde oder nicht. Zu diesem Zwecke wurden 24 Streptokokken- und 19 Pneumokokkenstämme bezüglich ihres Verhaltens gegenüber 10-, 20-, und 25-proz. Harnstoffbouillon in der oben angegebenen Weise untersucht. Das Ergebnis war: 10-proz. Harnstoffbouillon überlebten von 19 Pneumokokkenstämmen 16, von 24 Streptokokkenstämmen 23.

20-proz. Harnstoffbouillon überlebten von 19 Pneumokokkenstämmen 3, von 24 Streptokokkenstämmen 13(!). 25-proz. Harnstoffbouillon vermochten von 19 Pneumokokkenstämmen 1, von 24 Streptokokkenstämmen 9 zu überleben.

Man sieht daraus, daß die Streptokokkenstämme zwar meist eine größere Widerstandsfähigkeit gegenüber Harnstoff zeigen als die Pneumokokken, daß diese Eigenschaft jedoch nicht so regelmäßig auftritt, daß sie praktisch verwertet werden kann.

Eine besondere Anmerkung verdient noch das Verhalten der Choleravibrionen im konzentrierten Harnstoff:

Die Vibrionen werden nämlich in eine gallertige Masse umgewandelt. Eine ähnliche, wenn auch nicht so ausgesprochene Erscheinung beobachtete ich beim B. prodigiosum im Harnstoff.

Das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchungen ist demnach die große Harnstoffresistenz der Bakteriensporen, die so weit geht, daß monatelanger Aufenthalt der Sporen in konzentrierter Harnstofflösung bei Zimmertemperatur sie nicht abzutöten vermag. Daraus ergibt sich die Möglichkeit eines neuen Verfahrens zur Isolierung von Bakteriensporen aus Bakteriengemischen, über das später noch berichtet werden soll.

Was die morphologischen Veränderungen anlangt, welche die Bakterien unter dem Einflusse des Harnstoffs erleiden, so können wir das von W. James Wilson festgestellte Auftreten von Involutionsformen bestätigen. Die eingangs erwähnte Bemerkung von Karl Lange, daß Harnstoff sämtliche Bazillen inkl. Tuberkelbazillen auflöse, ist, wie wir in Uebereinstimmung mit Karl Bauer feststellen, in dieser allgemeinen Form nicht richtig. Wie wir schon gezeigt haben, werden z. B. Bakteriensporen nicht abgetötet und also auch nicht aufgelöst, und, wie wir schon vorweg bemerken möchten, sind auch die Tuberkelbazillen und verwandte Arten in sehr hohem Grade sogar in konzentrierten Harnstofflösungen resistent.

Wenn man in eine gutgewachsene flüssige Bakterienkultur z. B. in eine Typhusbouillonkultur Harnstoff bis zur Sättigung einträgt, so beobachtet man eine starke Aufhellung[1]). Die mikroskopische Unter-

1) Auf diese Erscheinung wurden wir durch Herrn Prof. Stoeltzner-Halle aufmerksam gemacht.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

suchung ergibt dann 1) daß ein beträchtlicher Teil der Bakterien mehr oder weniger vollständig aufgelöst worden ist; 2) daß ein anderer Teil sich in gequollenem, pathologisch verändertem Zustande befindet und 3) daß aber immer noch ein Teil der Bakterien morphologisch unverändert erscheint. Die zu beobachtende Aufhellung braucht nicht notwendig lediglich durch eine Auflösung eines großen Teiles der Bakterien bedingt zu sein; sie kann auch zum Teil darauf beruhen, daß die Bakterienmembranen etwa infolge Quellung eine Aenderung ihres Lichtbrechungsvermögens erfahren, wodurch andere optische Verhältnisse geschaffen werden.

Unsere weiteren Untersuchungen betrafen die Frage des Verhaltens der Tuberkelbazillen gegenüber Harnstoff. Karl Bauer hat Tuberkelbazillen mit Harnstoff in steigender Konzentration, jedoch nur bis zu 10 Proz. versetzt und nach 4 Tagen ein unverändertes morphologisches und färberisches Verhalten festgestellt.

Ich habe stärkere Konzentrationen von Harnstoff, nämlich 25-, 50- und 100-proz., auf Tuberkelbazillen in Reinkultur sowie auf Tb-haltiges Sputum einwirken lassen und gesehen, daß selbst bei Verwendung von konzentriertem Harnstoff von einer Auflösung der Tuberkelbazillen oder auch nur von einer deutlichen Aenderung ihres färberischen Verhaltens keine Rede sein kann.

Die schleimlösende Wirkung des Harnstoffes hat zur Folge, daß das Sputum beim Verreiben mit Harnstoff[2]) seine schleimige Eigenschaft verliert. Es entsteht eine weißliche Paste, die sich in Wasser gleichmäßig verteilt und zentrifugierbar ist. Damit ist also ein neues Verfahren gegeben, Sputum zu lösen und ausschleuderungsfähig zu machen, worüber später noch genauere Mitteilungen gemacht werden sollen.

Es hat den Anschein, daß alle Bakterienarten, welche eine biologische Verwandtschaft mit den Tuberkelbazillen besitzen, also die Säurefesten und wohl auch die Actinomyces-Arten, sich dem Harnstoff gegenüber mehr oder weniger ähnlich verhalten werden.

Auch das Verhalten der Schimmelpilze gegenüber konzentrierten Harnstofflösungen wurden untersucht. Es ergab sich, daß Schimmelpilze (Penicillium-Arten) zwar einen 20—30 Min. langen Aufenthalt in konzentrierter Harnstofflösung bei 37° C aushielten, nach $^3/_4$-stündigem Aufenthalt aber abgetötet waren; bei 45° C genügten 40 Min., bei 50° C 20 Min. und bei 56° 15 Min., um die Schimmelsporen abzutöten.

In einer besonderen Versuchsreihe wurde auch das Verhalten von Trichophytiepilzen gegenüber konzentriertem Harnstoff untersucht (5 Trichophyton-Stämme, 1 Mikrosporon und 1 Achorion), indem aus den gut gewachsenen Kulturrasen Stückchen herausgenommen und 30 Min. lang bei 37° C in gesättigter Harnstofflösung gehalten wurden. Darauf wurden die Stückchen der Harnstofflösung entnommen, kurz in steriler physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und auf neue Nährböden übertragen. Es ergab sich, daß von den 5 Trichophyton-Stämmen 3 wachstumsfähig geblieben waren, während 2, ebenso der Mikrosporon- und Achorion-Stamm, durch den $^1/_2$-stündigen Aufenthalt in konzentrierter Harnstofflösung abgetötet worden waren.

2) Verreiben des Sputums mit Salzen, z. B. mit Natriumchlorid, hat eine ähnliche Wirkung.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Zusammenfassung.

1) Sämtliche untersuchten Bakterienarten — mit Ausnahme der sporentragenden Bazillen (B. subtilis, mycoides, mesentericus und anthracis) und der Tuberkelbazillen — wurden durch ½-stündigen Aufenthalt in 100-proz. bis 50-proz. Harnstofflösung bei 37° C abgetötet.

Die sporentragenden Bazillen, richtiger die Sporen dieser Bazillen, hielten sich bei Zimmertemperatur monatelang in konzentrierter Harnstofflösung lebend.

Eine bedeutende, wenn auch geringere Widerstandsfähigkeit gegenüber Harnstoff besitzen auch die Trichophytiepilze und die Schimmelpilzsporen.

2) Die große Resistenz der Bakteriensporen gegenüber der Einwirkung konzentrierter Harnstofflösung gibt die Möglichkeit eines neuen Verfahrens zur Isolierung von Bakteriensporen aus Bakteriengemischen, worüber später berichtet werden soll.

3) Durch Verreiben des Sputums mit konzentriertem Harnstoff[1]) (Harnstoff crist.) entsteht eine Paste, welche wasserlöslich und dann ausschleuderungsfähig ist. Da die Tuberkelbazillen harnstoffresistent sind, ergibt sich die Möglichkeit eines neuen Verfahrens der Homogenisierung und Ausschleuderung tuberkelbazillenhaltigen Sputums.

4) Die Verwandten des Tuberkelbazillus scheinen eine ähnliche, jedoch graduell verschiedene Harnstoffresistenz zu besitzen wie die Tuberkelbazillen selbst.

1) Verreiben mit Salzen, z. B. mit Natriumchlorid purissimum, wandelt das Sputum ebenfalls in eine wasserlösliche und ausschleuderbare Paste um.

Inhalt.

Abe, T., Zur Frage der Fleckfieberätiologie, S. 217.

Aristowsky, W., u. **Höltzer, R.**, Bemerkungen zur Morphologie der Spirochaeta Obermeieri. Mit 1 Tafel, S. 175.

Carra, José, Die Aminosäuren in ihrer Beziehung zur Pigmentbildung des Bacillus pyocyaneus, S. 154.

Dold, H., Beiträge zur Frage der Wirkung des Harnstoffes auf Bakterien, S. 268.

Gildemeister, E., u. **Herzberg, Kurt**, Ueber das d'Herellesche Phänomen. IV. Mitteilung, S. 228.

Lauda, Ernst, Zur Histopathologie der herpetischen Meningoencephalitis des Kaninchens. Mit 2 Tafeln, S. 159.

Luger, A., u. **Lauda, E.**, Zur Aetiologie des Herpes zoster. Ein Beitrag zum Herpes- und Encephalitisproblem. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 205.

Meißner, Gertrud, Ueber Bakteriophagen gegen Choleravibrionen. Mit 1 Abbildung im Text, S. 149.

Nesmelow, Z., Untersuchungen über Amöben. Erster Teil, S. 182.

Prausnitz, Carl, u. **Preuss, Max**, Der Rezeptorenapparat der in Asciteskultur gezüchteten Typhusbazillen, S. 145.

Reichert, Fr., Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen, S. 235.

Silber, L., Ueber die Herkunft der X-Proteen und ihr Zusammenhang mit der Weil-Felixschen Reaktion. Mit 1 Abbildung im Text, S. 191.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 91. Heft 5.

Ausgegeben am 15. Februar 1924.

Nachdruck verboten.

Ueber Glukosidspaltung durch Bakterien der Coli-Gruppe.

[Aus dem Staatl. Serotherpeutischen Institut in Wien (biochem. Abteil.) und der Mikrobiologischen Sammlung in Wien.]

Von Mag. pharm. **A. Weintraub.**

Ueber die Spaltung von Glukosiden durch Bakterien wurde in der Literatur wiederholt berichtet, und zwar sind es bisher fast ausschließlich Darmbakterien, deren glukosidspaltende Wirkung untersucht worden ist.

Van der Leck[1]) erwähnt einen Coli-Stamm, welcher Indikan, Amygdalin und Aeskulin zu spalten vermochte; Gonnermann[2]) hat die Wirkung einiger Darmbakterien, darunter auch eines Coli-Stammes, auf Glukoside untersucht, wobei sich zeigte, daß das von ihm untersuchte, als B. coli commune bezeichnete Bakterium keines der Glukoside (Arbutin, Amygdalin, Sapotoxin), auch keines der Alkaloide (Atropin, Kokain, Morphin) zu spalten vermochte. Systematische Untersuchungen in dieser Richtung finden sich nur bei Twort[3]) und Castellani[4]). Tworts Untersuchungen werden später noch eine ausführliche Besprechung erfahren, weil sie durch die hier vorliegende Arbeit eine wesentliche Ergänzung und, soweit die gleichen Stämme zur Untersuchung kamen, eine Bestätigung in allen Details erfuhren; die von Castellani sollen ebenfalls berücksichtigt werden, insoweit sie mit den vorliegenden in Zusammenhang stehen.

Die Aufgabe dieser Arbeit war, eine große Anzahl von Bakterien der Coli-Gruppe, welche alle in Bezug auf ihre kohlehydratspaltende Wirkung eingehend in einer Arbeit von B. L. Monias[5]) untersucht worden waren, auf ihre glukosidspaltende Wirkung zu prüfen. Es wurden die derzeit erreichbaren Glukoside: α- und β-Methylglukosid, Amygdalin, Arbutin und Salizin geprüft. Gerade die beiden erstgenannten sind meines Wissens bisher noch nie in diesem Zusammenhange untersucht worden, und es schien von großem Interesse, ihre Spaltbarkeit durch Bakterien nebeneinander zu untersuchen. Die Untersuchungsmethode war die von Halle und Přibram[6]) für Bakterien ausgearbeitete Lindnersche Methode[7]) der Untersuchung im hohlen Objektträger, welche in der zitierten Arbeit von Monias[5]) in allen Details so ausführlich mitgeteilt wurde, daß eine Wiederholung hier nicht nötig erscheint. Monias fand bei der Untersuchung von 80 Reinkulturen der Coli-Gruppe, unter Bestätigung einiger Angaben früherer, besonders amerikanischer, Autoren (Jackson), daß die hierher gehörigen Bakterien sich in folgender Weise einteilen lassen (vgl. das Schema):

1) Van der Leck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1906. S. 366, 480, 647.
2) Gonnermann, Apothekerztg. Bd. 21. 1906. S. 976, 988, 998.
3) Twort, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1907. S. 508.
4) Castellani, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 65. 1912. S. 262.
5) Monias, Pharmaz. Monatsh. 1921. S. 1.
6) Halle u. Přibram, Wien. klin. Wochenschr. 1916.
7) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3. Aufl. Berlin 1921.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uebersichtsschema. Ordnung: B. coli

Milchgerinnung Gasbildung aus Laktose							
I. Hauptgruppe (B. indolicum)				II. Hauptgruppe (B. anindolicum Lembke)			
Indolbildung Kreatininbildung				Keine Indolbildung Keine Kreatininbildung			
A	B	C	D	A	B	C	D
Gasbildung aus allen Kohlehydraten (B. communior Jackson)	Kein Gas aus Saccharose u. Raffinose (B. commune Jackson)	Kein Gas aus Dulcit (B. aërogenes Jackson)	Kein Gas aus Saccharose, Raffinose u. Dulcit (B. acidi lactici Jackson)	Wie bei der Gruppe I			

B. anaërogenes (Lembke)

Keine Gasbildung aus Kohlehydraten			
1	2	3	4
Indol + Kreatinin + Milchkoagulation +	Indol — Kreatinin — Milchkoagulation +	Indol + Kreatinin + Milchkoagulation —	Indol — Kreatinin — Milchkoagulation —
B. coli		B. enteritidis	

B. enteritidis (B. paratyphi B).

Keine Milchgerinnung Keine Kreatininbildung							
I. Indolbildung Kreatininbindung				II. Keine Indolbildung Keine Kreatininbildung			
A	B	C	D	A	B	C	D
Wie bei B. coli				Wie bei B. coli			

Tabelle der Glukosidspaltung.

Kultur	Autor	Fundort	α-Methylglukosid S.	α-Methylglukosid G.	β-Methylglukosid S.	β-Methylglukosid G.	Amygdalin S.	Amygdalin G	Arbutin S.	Arbutin G.	Salizin S.	Salizin G.
Hauptgruppe I, Unterabteilung A) „B. communior Jackson", Gasbildung aus allen Kohlehydraten.												
B. communior A.	Winslow	New York	—	++	±	++	—	—	—	++	+	++
B. coli	Pollak	Wien	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. communior rubrum	Winslow	New York	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B. coli A Typ. 3	Woll	Stockholm	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—
B. coli β polare	Lehmann	Würzburg	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—
B. aërogenes Kruse	Maschek	Prag	—	++	±	++	+	+	+	++	+	++
B. coli „A"	Schnürer	Wien	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. aërogenes Schön	Kornauth	„	—	+	+	++	—	—	—	+	+	++

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kultur	Autor	Fundort	α-Methyl-glukosid		β-Methyl-glukosid		Amygda-lin		Arbutin		Salizin	
			S.	G.	S.	G.	S.	G.	S.	G.	S.	G.
Hauptgruppe I, Unterabteilung B) „B. commune Jackson“, keine Gasbildung aus Raffinose.												
B. coli a. Ementhaler Käse	Lehmann	Würzburg	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. coli „B“ Typ. 15	Woll	Stockholm	—	—	—	+	—	—	—	—	—	±
B. coli Nr. 361	Seruminstitut	Wien	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. coli „B“ Typ. 7	Woll	Stockholm	—	—	—	+	—	±	—	—	—	—
B. coli Flexner	Wagner	München	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
Hauptgruppe I, Unterabteilung C) „B. aërogenes Jackson“ keine Gasbildung aus Dulcit.												
B. coli Nr. 3	Kulka	Lublin	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—
B. coli Nr. 13	„	Wien	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—
B. coli Typ. 4	Woll	Stockholm	—	—	—	++	—	—	—	++	—	++
B. coli „A“ Typ. 2	„	„	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B. coli aus Niere	Söldner	Wien	—	±	—	++	—	—	—	—	—	—
B. coli „A“ Typ. 16	Woll	Stockholm	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B. coli „B“ Typ. 8	„	„	—	++	—	++	—	—	—	—	—	+
B. coli „atyp.“ 1859	Jaffee	Wien	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
B. coli, septicaemiae gallinarum	Zeiss	Gießen	—	—	+	++	+	±	—	—	—	—
B. coli mobile „Messea“	Loewy	Bozen	—	—	+	++	—	—	—	—	—	.
B. cloacae	Jordan	Massachusetts	—	++	++	++	+	—	+	++	++	++
Hauptgruppe I, Unterabteilung D) „B. acidi lactici Jackson“, keine Gasbildung aus Saccharose, Dulcit und Raffinose.												
B. coli „B“ Typ. 14	Woll	Stockholm	—	—	+	++	—	±	—	—	—	—
B. coli haem. Nr. 16	Kraus	Wien	±	±	+	+	—	—	—	—	—	—
B. coli	Mießner	Hannover	—	—	+	++	—	—	—	—	—	±
B. coli aus Harn	Porges	östlicher Kriegsschauplatz	—	+	+	++	—	—	—	+	—	++
B. coli haem. II	Kraus	Wien	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—
B. coli aus Niere	Eigenfeld	Wien	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. coli verum	Smyth	Philadelphia	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. coli Nr. 2	Kulka	Lublin	—	—	++	—	±	—	±	—	++	—
B. acidilactici Hueppe	Mießner	Hannover	—	—	+	++	—	—	—	—	—	— —
B. coli „B“ Typ. 6	Woll	Stockholm	—	—	+	++	—	—	—	—	—	
B. coli	Lederer	Wien	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. coli „Kind“	Kraus	Wien	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Kultur	Autor	Fundort	α-Methylglukosid S.	α-Methylglukosid G.	β-Methylglukosid S.	β-Methylglukosid G.	Amygdalin S.	Amygdalin G.	Arbutin S.	Arbutin G.	Salizin S.	Salizin G.
„B. coli“ Hauptgruppe II. B. anindolicum Indol-, Kreatinin-, Milchgerinnung + Gasbildung und Laktose.												
B. coli aus Teig	Lehmann	Würzburg	—	—	++	++	—	—	—	+	—	—
B. coli simile Histidinspalter	Twort	London	—	+	+	++	—	—	—	—	—	—
B. coli aus Harn bei Fleckfieber	Rotky	Prag	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B. coli mutabile Massini	Neißer	Frankfurt a. M.	—	—	+	++	—	—	+	+	+	+
B. pseudocoli	Woll	Stockholm	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. lactis aërogenes	Escherich	Wien	+	++	+	++	—	—	+	++	+	+
B. coli phenologenes	Rhein	Posen	—	—	+	+	—	—	—	±	—	—
B. coli 103 1915	Arzt	Krakau	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
B. coli 106 1915	„	„	—	—	+	±	—	—	—	+	—	—
„B. anaërogenes“ Lembke. Aus keinem Kohlehydrat Gasbildung.												
B. coli Camembert	Lehmann	Würzburg	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—
B. anaërogenes	Winslow	New York	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—
B. coscaroba	„	„	++	±	++	—	—	—	+	±	++	±
B. candiense	Castellani	Colombo, Ceylon	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—
B. madapense	„	„	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—
B. lunavense	„	„	—	—	+	—	—	—	+	±	—	—
B. levans 2	Lehmann	Würzburg	—	—	+	—	+	—	+	—	++	—
B. levans 1 Wolffin	„	„	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
B. talavense 1911	Castellani	Colombo, Ceylon	—	—	—	—	—	—	++	—	++	—
Hauptgruppe I. B. enteritidis, Milchgerinnung Laktose: keine Säure und Gasbildung. Indol-Kreatininbildung.												
B. coli simile I	Graef	Kiel	—	—	+	—	—	—	+	—	+	—
B. coli Nr. 346	Seruminstitut	Wien	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
B. colombense „Garvin“	Castellani	Colombo, Ceylon	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
B. pseudoasiaticum	„	„	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—
B. giumai	„	„	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
B. tangalense	„	„	—	—	—	—	—	—	++	—	++	—
Hauptgruppe II. B. enteritidis, Milchgerinnung Laktose: keine Säure und Gasbildung. Indol-Kreatininbildung.												
B. paratyphi „Brzak“ 1915	Jaffee	Wien	—	—	++	++	—	—	+	+	—	—
B. icteroïdes Sanarelli	Winslow	New-York	—	—	+	++	—	—	—	—	—	+
B. colombae „Wild“	Castellani	Colombo, Ceylon	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—
B. levans „Schwarzbrot“	Lehmann	Würzburg	±	++	+	++	—	—	—	—	—	—
B. coli commune 1811	„	Wien	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—

S. Säurebildung, G. Gasbildung, + positiv, — negativ, ++ **stark positiv**, ± schwach positiv.

Hauptgruppe I (B. coli), mit Milchgerinnung, Indolbildung, Kreatininbildung, Gasbildung aus Laktose; Untergruppe A): („B. communior Jackson“) Vergärung aller Kohlehydrate unter Gasbildung. Untergruppe B): („B. commune Jackson“) Gasbildung aus allen Kohlehydraten, mit Ausnahme von Saccharose und Raffinose. Untergruppe C): („B. aërogenes Jackson“) Gasbilduag aus allen Kohlehydraten mit Ausnahme von Dulcit. Untergruppe D): („B. acidi lactici Jackson“) Gasbildung aus allen Kohlehydraten, mit Ausnahme von Dulcit, Saccharose und Raffinose. — Hauptgruppe II („B. anindolicum Lembke“): Milchgerinnung und Laktosevergärung, aber keine Indolbildung und keine Kreatininbildung. —

Weitere Gruppen, welche nicht mehr als B. coli bezeichnet werden können: „B. anaërogenes Lembke“: Aus keinem Kohlehydrat wird Gas gebildet, und endlich Uebergang zur Gruppe B. enteritidis, d. h. solchen, welche Milch nicht zur Gerinnung bringen und aus Laktose kein Gas und keine Säure bilden, wieder mit 2 Untergruppen, I) mit Indol- und Kreatininbildung, II) ohne Indol- und Kreatininbildung.

Die beigefügte Tabelle zeigt die Zugehörigkeit der hier untersuchten Kulturen und gleichzeitig das Resultat der Untersuchungen.

Gleich auf den ersten Blick ist zu sehen, daß eines der untersuchten Glukoside, das β-Methylglukosid, von allen Bakterien der Coli-Gruppe gespalten wird, was um so auffallender erscheint, als aus der vorliegenden Literatur hervorgeht, daß gerade dieses Glukosid von Hefen beispielsweise — im Gegensatz zu α-Glukosid — nicht gespalten wird (Lindner). Von den auch in der Arbeit von Monias nicht mehr als zur Coli-Gruppe gehörig bezeichneten Bakterien der Gruppe B. anaërogenes Lembke, deren Vertreter aus keinem Kohlehydrat Gas zu bilden vermögen, können alle, mit Ausnahme von zweien, Säure aus β-Methylglukosid abspalten. Diese beiden, welchen dieses Vermögen fehlt, B. candiense und talavense, beide von Castellani gezüchtet, sind auch sonst die fermentativ so ziemlich am schwächsten wirkenden dieser Gruppe. Noch ein drittes, ebenfalls von Castellani gezüchtetes Bakterium, B. tangalense, welches der Enteritis-Gruppe (keine Laktosespaltung, kein milchgerinnendes Ferment) angehört, ist ebenfalls unfähig, β-Glukosid zu zerlegen. Diese beiden Bakterien, talavense und tangalense Castellani, spalten jedoch Arbutin und Salicin, während B. candiense auch für diese beiden Glukoside kein Ferment besitzt. — Ganz im Gegensatz zur leichten Spaltbarkeit des β-Methylglukosids durch die Bakterien der Coli-Gruppe steht die außerordentlich viel seltener vorkommende Angreifbarkeit des α-Methylglukosids, für welches nur einzelne Vertreter Fermente zu besitzen scheinen. In der sonst mit außerordentlich kräftig wirkenden fermentativen Eigenschaften für alle Kohlehydrate ausgestatteten Gruppe I A) (B. communior Jackson) kommt die Fähigkeit, α-Methylglukosid zu spalten, 3 Vertretern zu, B. communior A (Winslow) und 2 als B. aërogenes bezeichneten, alle 3 auch durch Spaltungsvermögen für Arbutin und Saliciu ausgezeichnet, einer auch für Amygdalin. In der Gruppe B. commune Jackson, welcher das Spaltvermögen für Saccharose und Raffinose fehlt, war keiner der untersuchten Stämme zur Spaltung von α-Methylenglykosid befähigt, in der folgenden, B. aërogenes Jackson, welcher das Spaltvermögen für Dulzit fehlt, ist das B. cloacae Jordan durch den besonderen Fermentreichtum für Glukoside gekennzeichnet; es spaltet neben β- und α-Methylglukosid auch alle anderen Glukoside, welche untersucht wurden (Arbutin, Salizin bis zur Gasbildung, Amygdalin unter Säurebildung). Von den übrigen Stämmen dieser Gruppe wird α-Methylglukosid noch von 2 Stämmen (B. coli B, Typus 8 Woll und B. coli aus Niere, Söldner) fermentiert. In der nächsten Gruppe (B. acidi lactici Jackson), welcher die Fermente für Saccharose, Raffinose und

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Dulzit fehlen, finden wir wieder einen energischen Glukosidspalter (B. coli aus Harn, Porges), welcher neben α- und β-Glukosid auch Salizin und Arbutin, nicht aber Amygdalin spaltet, ferner 2 weitere Stämme (B. coli haem. Nr. 2 und No. 16, Kraus) — alte Laboratoriumsstämme, welche seinerzeit durch das Vermögen, Blut zu hämolysieren, ausgezeichnet waren — welche ebenfalls α-Methylglukosid spalten. In der Gruppe, welcher die Fähigkeit, aus Kohlehydraten Gas zu bilden, abgeht, können wir natürlich höchstens eine Säurebildung aus Glukosiden erwarten. Wir finden auch in dieser Gruppe einen Vertreter, welcher beide Methylglukoside, Arbutin und Salizin, zu spalten vermag (B. coscoroba Castellani). Unter den zur Enteritis-Gruppe (keine Milchgerinnung, keine Laktosespaltung) gehörigen Stämmen ist nur B. levans durch die Fähigkeit, beide Glukoside zu spalten, gekennzeichnet.

Ueber das Spaltungsvermögen der untersuchten Bakterien für die übrigen Glukoside können wir uns kürzer fassen. In allen Gruppen finden sich einzelne Vertreter, welche Arbutin und Salizin spalten, meist beide, doch durchaus nicht immer. Es läßt sich kaum sagen, daß das eine oder das andere dieser beiden Glukoside häufiger gespalten wird als das andere. Wesentlich seltener scheint dagegen das Spaltungsvermögen für Amygdalin in der Coli-Gruppe vorzukommen. Auch wenn es gespalten wird, ist oft die Spaltung eine zögernde, und geht nur ausnahmsweise bis zur Gasbildung. Ob das mit der dabei entstehenden, auf das Wachstum der Bakterien hemmend wirkenden hypothetischen Blausäureentwicklung[1]) zusammenhängt, läßt sich nur vermuten. Auch bei den anderen Glukosiden, welche in giftige Spaltungsprodukte zerlegt werden (aus Arbutin entsteht Hydrochinon, aus Salizin Salizylsäure), muß man daran denken, daß durch diese Spaltprodukte wachstumshemmende Einflüsse die Fermentbildung beeinträchtigen.

Ein Vergleich der hier mitgeteilten Resultate mit den bisher in der Literatur vorliegenden erscheint um so notwendiger, als nur die wiederholte Bearbeitung verschiedener Mikroorganismen und wohl auch ein und desselben Mikroorganismus durch verschiedene Autoren und zu verschiedenen Zeiten Aufschluß über die wahren fermentativen Eigenschaften geben können. So ist beispielsweise die alte Angabe von Inghilleri[2]), daß B. coli commune Amygdalin spalte, B. typhi hingegen nicht, in dieser allgemeinen Form, wie bereits aus einer fast gleichzeitig erschienenen Arbeit von Fermi und Montesano[3]) hervorging, nicht aufrecht zu erhalten. Es gibt eben, wie aus der eben erwähnten Arbeit der beiden Italiener, sowie aus der von Twort[4]) und aus der vorliegenden Untersuchung hervorgeht, Amygdalin spaltende und Amygdalin nicht spaltende Coli-Stämme, letztere sogar in überwiegender Mehrzahl. Gonnermann[5]), welcher ein B. coli in Händen hatte, das weder Arbutin noch Amygdalin zu spalten vermochte, nimmt trotzdem, ebenso wie Gérard[6]), an, daß Amygdalin im Darm stets durch B. coli gespalten werde, womit die Giftigkeit dieses Präparates für den Menschen zu erklären sei. 2 Arbeiten, jene von Castellani[7]) und von Twort[4]),

1) Die allerdings nicht nachgewiesen ist.
2) Inghilleri, Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1895. S. 821.
3) Fermi u. Montesano, Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1895. S. 723.
4) Twort, l. c.
5) Gonnermann, Pflügers Arch. Bd. 113. 1906. S. 168.
6) Gérard, Journ. de Pharm. et de Chim. Sér. II. T. 3. 1896. p. 233.
7) Castellani, l. c.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

beschäftigen sich zum Teil mit einzelnen der von mir untersuchten Stämme, und verwendeten zum Teil die gleichen Glukoside; nur die beiden Methylglukoside sind in diesem Zusammenhange bisher noch niemals geprüft worden. Mit den Resultaten von Twort stimmen die oben angeführten vollkommen überein. Ein B. lactis aërogenes (Stamm Mc Conkey), welches er prüfte, vermochte, ebenso wie das hier untersuchte B. aërogenes Kruse (Maschek) Arbutin, Salizin und Amygdalin zu spalten; das hier untersuchte B. lactis aërogenes Escherich spaltete wohl Arbutin und Salizin, nicht aber Amygdalin; ebenso verhielt sich das von mir untersuchte B. aërogenes Schön (Kornauth). Das von mir untersuchte B. cloacae Jordan wurde sowohl von Castellani wie von Twort untersucht. Nach meinen Untersuchungen und jenen von Twort wird Arbutin, Amygdalin und Salizin fermentiert, Castellani fand kein Spaltvermögen für Salizin; ein von mir untersuchter Stamm B. acidi lactici (Mießner, Hannover) zeigt für Arbutin, Salizin und Amygdalin kein Spaltvermögen, Twort hatte einen ebenfalls als B. acidi lactici bezeichneten Stamm (von Mc Conkey) in Händen, welcher Arbutin und Salizin zu spalten vermochte, nicht aber Amygdalin, und Castellani untersuchte einen analog bezeichneten Stamm, dessen Herkunft nicht angegeben wird, welcher Salizin nicht spaltete (die anderen Glukoside wurden von diesem Autor nicht untersucht). Das von Castellani und mir untersuchte B. coscoroba (der Stamm der Sammlung stammt von Winslow, New York, der von Castellani untersuchte trägt keine genauere Bezeichnung). Das von mir und von Castellani untersuchte B. candiense (bei letzterem als B. kandiensis bezeichnet) ist identisch, da die Kultur aus der Sammlung von Castellani herrührt. Die Resultate stimmen überein; weder der eine noch der andere Stamm vermochten Salizin oder Amygdalin zu spalten. Das Gleiche gilt von den ebenfalls identischen Stämmen B. madapense Castellani. Dagegen zeigt der ebenfalls von uns beiden untersuchte Stamm B. lunavense Castellani bei mir Säurebildung aus Amygdalin, bei Castellani nicht; Salizin wird auch bei mir nicht angegriffen. B. talavense Castellani spaltet weder bei Castellani noch bei mir Amygdalin, dagegen sowohl bei seiner wie bei meiner Untersuchung Salizin, und zwar in beiden Untersuchungen nur unter Säure-, nicht unter Gasbildung. Die verschiedenen als B. levans (aus Teig gewonnenen) bezeichneten Stämme verhalten sich untereinander verschieden: einer stimmt mit dem von Castellani untersuchten gut überein. B. pseudoasiaticum spaltete bei Castellani Salizin bis zur Gasbildung, Amygdalin nicht, in meiner Untersuchung weder Salizin noch Amygdalin; vielleicht ist dieser Kultur die salizinspaltende Fähigkeit verloren gegangen. Das Gleiche bezüglich der Spaltung von Salizin gilt von der Kultur B. giumai, die sich auch bezüglich Amygdalin gleich verhielt. B. tangalense spaltet bei Castellani und in meinen Versuchen Salizin bis zur Säurebildung, Amygdalin weder bei ihm noch bei mir. B. icteroides Sanarelli, welche Kultur in meinen Versuchen Salizin bis zur Gasbildung spaltet, Amygdalin nicht, vermag bei Castellani weder das eine noch das Glykosid zu zerlegen.

Zusammenfassung.

Die Untersuchung einer großen Anzahl von Bakterien der Coli-Gruppe auf ihre Fähigkeit, Glukoside zu zerlegen, ergab, daß sämtliche

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zur Coli-Gruppe gehörigen Bakterien, mit Ausnahme von 2, welche auch sonst außerordentlich fermentarm sind, β-Methylklukosid zu spalten vermögen. Diese Tatsache ist insofern auffallend, als Hefen im allgemeinen (es spalten nur wenige Methylglukoside) β-Methylglukosid gar nicht oder nur schwach, α-Methylglukosid hingegen leichter spalten. Die übrigen untersuchten Glukoside wurden von einigen Vertretern der verschiedenen Gruppen gespalten, von anderen nicht, ohne einer strengen Regel zu folgen. Es konnte mit Hilfe der angewendeten Methode allerdings nicht entschieden werden, ob es sich hier um Fehlen des Fermentes handelt, oder ob nicht die durch Spaltung der Glukoside entstehenden Produkte wenigstens in einigen Fällen wachstumshindernd wirken. — Vergleiche mit den Resultaten der Untersuchungen anderer Autoren, die zum Teil dieselben Bakterien in Händen hatten, zeigen, daß im allgemeinen die fermentative Glukosidspaltung eine konstante Eigenschaft ist, d. h., einmal vorhanden, nicht verloren geht. In einzelnen Fällen sind allerdings Differenzen in den Resultaten zu verzeichnen; da diese jedoch nicht immer darin bestehen, daß bei späteren Untersuchungen weniger Fermente zur Beobachtung kommen, sondern zuweilen auch von früheren Untersuchern nicht beobachtete Spaltungen von Glykosiden in späteren Untersuchungen gelegentlich festgestellt werden konnten, dürften diese Differenzen wohl eher auf anderen Ursachen beruhen (andere Untersuchungsmethode, Verwendung anderer, vielleicht nicht analytisch gleichartiger Glykoside, Verwendung anderer Nährböden, deren Einfluß noch besonders zu untersuchen wäre).

Für die gütige Erlaubnis, vorliegende Untersuchungen mit den Hilfsmitteln des serotherapeutischen Institutes und den Kulturen der mikrobiologischen Sammlung in Wien ausführen zu dürfen, bitte ich den Institutsvorstand, Herrn Hofrat Prof. Paltauf und insbesondere meinen unvergeßlichen Lehrer, Herrn Prof. Dr. Ernst Přibram, der mir den Weg zur wissenschaftlichen Arbeit gewiesen hat, meinen herzlichsten Dank entgegennehmen zu wollen.

Nachdruck verboten.

Endo-Nährböden bei der Pestdiagnose.

[Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. O. Neumann).]

Von Prof. Dr. **Kister.**

Nachdem während der Kriegszeit der Schiffsverkehr im Hamburger Hafen gänzlich geruht hatte, belebte er sich nach Friedensschluß allmählich wieder, und wurde sogar zeitweilig reger, als vor dem Kriege. Damit kamen wieder Schiffe aus pestverseuchten Gegenden nach Ham-

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

burg mit ihren unerwünschten Passagieren, den Pestratten. Das 1. Schiff, auf welchem Pestratten nachgewiesen werden konnten, kam Mitte August 1920 nach Hamburg. Auf diesem aus Buenos Aires kommenden, mit Getreide beladenen Segler, „Prince George", fanden sich im ganzen 348 Ratten, von denen 2 mit Pestbakterien behaftet waren. Das 2. Schiff mit Pestratten kam Ende Juli 1922 ebenfalls aus Buenos Aires nach Hamburg. Es war der mit Getreide und Stückgut beladene Dampfer „Legie". Auf diesem Dampfer fanden sich nur 39 Ratten und 1 Maus, und nur 1 Ratte hatte Pestbakterien. Das nächste Schiff mit Pestratten war der mit Sack- und Stückgut beladene Dampfer „Arola Mendi", welcher Ende November 1922 aus Buenos Aires nach Hamburg kam. Der Dampfer hatte 478 Ratten an Bord, von denen 50 Pestbakterien aufwiesen. Bei diesem Falle gestaltete sich die Diagnose, wie schon in früheren Jahren manchmal, insofern schwierig, als die pestverdächtigen Ratten sich bereits in einem hochgradigen Zustand der Fäulnis befanden, und zwar war es hier der Proteus vulgaris, der sich bei allen zuert eingelieferten Ratten in sämtlichen Organen der Tiere fand. Dadurch war es gänzlich ausgeschlossen, auf den für die Pestdiagnose gebräuchlichen Nährböden Reinkulturen von Pestbakterien zu erhalten, trotzdem im mikroskopischen Bilde typische, polgefärbte Stäbchen bei weitem in der Ueberzahl, und nur anscheinend ganz wenige Fäulnisbakterien vorhanden waren. In allen Kulturen, auch in den von den Bubonen angelegten, hatten schon nach weniger als 18 Std. die Proteus-Bakterien die ganzen Platten mit einem gleichmäßigen, hauchartigen, kaum mit bloßem Auge zu erkennenden Belag überzogen, so daß die Kolonien der Pestbakterien nicht zu erkennen waren, oder, wenn es mikroskopisch möglich war, doch durch Abimpfung eine Reinkultur, die ja zum Abschluß der Diagnose erforderlich ist, nicht erzielt werden konnte. Auch in den Organen der mit dem Ausgangsmaterial geimpften Tiere, selbst der kutan geimpften Meerschweinchen, waren immer noch Proteus-Bakterien zugegen, die, wenn sie auch mikroskopisch im Färbepräparat ganz zurücktraten, in den Kulturen alles überwucherten. Unter diesen Umständen hat uns nun der Endo-Nährboden, der für Typhus-, Paratyphus- und auch für Cholerauntersuchungen in unserem Institut stets mit bestem Erfolge angewandt wird, gute Dienste geleistet. Der Proteus vulgaris wird im Wachstum, was schon seit längerem bekannt ist, auf der Endo-Platte derartig gehemmt, daß er nicht, wie auf anderen Nährböden, die ganze Platte hauchartig überzieht, sondern unregelmäßige, aber umschriebene Kolonien bildet. Es gelingt bei reichlicher Verdünnung und Ausspatelung mit einem Glasspatel leicht, isolierte Pestkolonien zu erhalten; selbst bei dichter Aussaat entwickeln sich manchmal, umrankt von den nunmehr nach Art des Proteus Zenkeri oder der O-Form des Proteus wachsenden Proteus-Ausläufern, isoliert stehende Pestkolonien. Nur ist es ratsam, sich vor der Abimpfung bei schwacher Vergrößerung von der hinreichenden Isolierung zu überzeugen. Die Gelatineplatte, welche auch für die Aussaat fauligen Pestmaterials empfohlen worden ist, führt bei Anwesenheit von Proteus hier nicht zum Ziele, da die ganzen Platten zu schnell verflüssigt werden; abgesehen davon, daß die Gelatineplatte, bei niederer Temperatur aufbewahrt, für die praktische Diagnose ein zu spätes Ergebnis liefern würde. Die Vorbedingung für die Verwendung des Endo-Nährbodens ist allerdings, daß er richtig hergestellt wird.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn sich dieser Nährboden noch nicht so allgemeiner Anerkennung erfreut, wie er es wohl verdient, so liegt das zum guten Teil daran, daß er in seinem Fuchsin-Natriumsulfitzusatz nicht richtig abgestimmt wird. Es genügt nicht, den Endo-Nährboden genau nach der von Endo angegebenen Vorschrift herzustellen, sondern es muß jedesmal für das Nährbodenquantum die gerade günstige Menge Fuchsin und Natriumsulfit festgestellt und durch Prüfungsplatten die Brauchbarkeit des Nährbodens nachgewiesen werden. Dieses gilt auch für die Untersuchung auf die verschiedenen Darminfektionserreger. Ein guter Endonährboden ist neben den anderen vorgeschriebenen auch für Choleravibrionen vorzüglich geeignet. Die Vibrionen wachsen auf ihm üppig und mit einer burgunderroten Farbe, die sie leicht von den metallisch glänzenden Coli-Bakterien oder kleineren rötlichen Kokkenkolonien unterscheiden läßt. Für die Pestdiagnose kann der Nährboden aber, wie schon gesagt, noch besonders bei fauligem Material empfohlen werden. Wie Prüfungen einer größeren Reihe, aus fauligem Fleisch und anderem fauligen Material gezüchteter Proteus-Stämme ergaben, wird die schnelle Ausbreitung der Kultur auf dem Endo-Nährboden fast stets mehr oder weniger weitgehend gehemmt. Die Pestbakterien sind auch auf dem Endo-Nährboden gut als solche zu erkennen. Sie wachsen auf ihm rötlich, im übrigen aber in denselben Formen, wie auf Fleischwasseragar, auf welchem sie ja bekanntlich in 2 Typen auftreten, entweder, und zwar nach unseren Erfahrungen am häufigsten, in Form sehr zarter, heller, im Zentrum wenig granulierter und mit einem feinen, durchscheinenden Saum ringsum umgebener Kolonien, oder seltener in Form etwas massigerer, im Zentrum gelblicher, stärker granulierter Kolonien, die den feinen Rand nur zum Teil und andeutungsweise erkennen lassen.

Nachdruck verboten.

A Study of Yeasts from Sore Throats.

[From the Department of Bacteriology, University of Illinois, Urbana.]

By **Fred W. Tanner** and **Gail M. Dack.**

The yeasts and yeast-like fungi are becoming better understood as etiologic agents in disease. One does not have to go back very far nor search very long in the literature to find statements that they are relatively unimportant, at least, of much less significance than the bacteria. This is undoubtedly due to the slight emphasis given these microorganisms in text-books and in courses in microbiology. Castellani has suggested that these fungi receive the same intensive analysis in relation to disease that the bacteria have received for half a century. This would, perhaps, reveal and emphasize their etiological importance. Recently, however, the literature on these organisms seems to be becoming more and more voluminous.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Historical.

The pathogenic yeasts and yeast-like fungi have received little study since the early days of experimental medicine. The cells of these organisms were larger than the bacteria and were consequently seen with greater ease. Claude Bernard is said to have injected yeasts into dogs. Intravenous injections, in some instances, caused death. Neumayer (1) carried out investigations to determine whether yeasts which were present in foods and beverages, and which were used in the preparation of these products, could cause disease when taken into the alimentary tract. Neumayer reported that they were harmless and that they soon died out. It seems to be true, then, that we are dealing with a group of fungi part of which are pathogenic and part of which are non-pathogenic. This is certainly true for the molds and the bacteria.

Troissier and Achalme (2) isolated a yeast from sore throats to which they gave the name Saccharomyces anginae. It grew abundantly in ordinary media. de Stöcklin (3) found yeasts in 37 of 500 diphtheria examinations. The characteristics of these fungi indicated that they were apparently thrush organisms. In several cases de Stöcklin found these fungi along with Corynebacterium diphtheriae. He believed that the presence of the yeast increased the virulence of the Corynebacterium diphtheriae, and that there was probably a symbiotic relation. Grasset (4) found a yeast much like the thrush fungus in an abscess in the mouth. This organism produced lesions and abscesses from which it was cultured. Foulerton (5) isolated a yeast from several cases of pharyngitis. It was associated with Corynebacterium diphtheriae in one case. Foulerton could not say whether the yeast was the etiologic agent in the pharyngitis or whether it was merely a casual contaminant. Its pronounced pathogenic properties determined by animal inoculations, however, suggest that it may have been the cause of the symptoms in the cases studied. Foulerton named this yeast Saccharomyces tumefaciens albus. There was never any tendency to form a mycelium. Sporulation was not observed, reproduction taking place solely by budding. These characteristics would indicate that the name was ill-founded. It probably belonged to Cryptococcus group of Vuillemin. Pathogenic properties were exhibited for tame mice, rabbits, and to a lesser degree for guinea pigs. Wilson (6) has stated that of the various types of sore throat one may be due to yeasts. Attention was directed to a number of cases which were studied. Over a period of 18 months, yeast-like organisms were found to be present in 136 cases of respiratory infections which were reported by the physician to be accompanied by a membrane in the throat and which were negative for diphtheria. In some cases streptococci and staphylococci were present. 12 of the cases were studied personally by Wilson who described the clinical symptoms as follows:

"These cases presented a clinical history of onset with chill, somewhat rapid rise in temperature, running in two children to 105°, malaise and considerable prostration. The tonsils were congested, swollen and they very rapidly developed a thin, grayish white membrane. In most cases this membrane extended forward from the tonsils over the anterior faucial pillars and in some cases upward involving the uvula and soft palate. In one instance, the membrane extended completely around on both sides of the tongue. The membrane is somewhat completely removed though with much more difficulty than in thrush. The underlying surface does not bleed as a rule, though occasionally bleeding points are observed, especially over the tonsils. The color has not been observed to be yellowish, but pearly white or grayish white. There is considerable cervical adenitis. The membrane does not yield readily to local treatment with silver nitrate, iodin, lactic acid, carbolic acid or formalin. Antitoxin in four thousand unit doses up to sixteen, twenty and twenty-four thousand units has been used on four of these cases without any effect on the membrane. Two cases reported to the laboratory in which no other organisms of apparent clinical significance were obtained in any of several cultures therefrom have proven fatal".

Hickey (7) reported the presence of many yeasts in a case of sore throat. The tonsils were covered with a heavy membrane in which no other pathogenic bacteria were found. Steinhaus (8) found a yeast in a child suffering from scarlet fever. He named this fungus Saccharomyces membranogenes. On the 5th day the child developed croup with a fetid odor. On the 21st day dypsnea developed and tracheotomy was performed. After operation, the child coughed up a tenaceous mass after which breathing became easier. One thousand units diphtheria antitoxin were given, but the patient died the next day. Cultures on Loefflers blood serum showed glistening, round, light yellow-tinged colonies in 16 hours. These proved to be a yeast. Injections into guinea pigs, mice and rabbits showed it to be pathogenic. At autopsy characteristic miliary tubercles and sections revealed the yeast fungus in all of the

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

organs and in the blood vessels and nerves. The yeast fermented glucose. The presence of yeast-like fungi on swabs submitted for diphtheria examinations was reported by Heidsieck (9). Out of 300 such specimens, 13 contained yeasts. Breed (10) found yeasts from various pathologic conditions including lung infections. They were also present in the membrane on a tonsil. That they were the causal organisms in some of the throat infections seems to be indicated by the fact that improvement in three cases followed the disappearance of the organisms. Autogenous "bacterins" prepared from these yeasts seemed to cause improvement. The serum of two patients gave positive agglutination reactions for the yeast cells. Grover (11) carried out an investigation using yeasts isolated from diphtheria specimens. His attention seems to have been drawn to these organisms by the frequency with which they were found on the swabs. Guinea pig inoculations were followed by glandular enlargement in all cases except four. One caused the death of the guinea pig in three weeks. No other pathologic changes than glandular enlargement could be found. Another culture caused the formation of an abscess of one of the cervical glands, the pus from which gave a pure culture of the yeast which was injected. In another series of tests scarifications were made on the inside of the cheek of guinea pigs after which, in many cases, false membranes were formed. Grover reported, although no data were apparently presented in his paper to support it, that yeasts are present in a certain percentage of all normal throats, and may become etiologically significant at certain times. A yeast was isolated by Guilliermond and Peju (12) from a benign angina. It was present in the membrane and was named Debaromyces Klöckeri. Both isogamy and heterogamy were observed and it was classed with Debaromyces since asci resulted from copulation. According to Greenbaum and Klauder (13) the skin is covered with yeasts. They found four types of yeasts in the interdigital spaces. Three of these were classed with Saccharomyces and one with Cryptococcus following the scheme of Castellani and Chalmers in their Manual of Tropical Medicine, 3rd. edition. The 3 Saccharomyces gave negative results on animal inoculation. The Cryptococcus, however, gave evidence of pathogenicity on inoculation into guinea pigs. 4 days after inoculation a tender mass was palpable at the site of inoculation. Necropsy showed pathologic changes, with pus formation from which a pure culture of yeasts was isolated. Increasing doses of this yeast caused death preceded by a severe peritonitis. A lesion was also produced by rubbing some of the yeast into an interdigital space of a patient. Greenbaum and Klauder found yeast like fungi commonly on the skin. Numerous other reports of pathogenic yeasts are presented in the literature.

Experimental.

The cultures used in this investigation were isolated from throat swabs submitted to the East State Branch Laboratory of the Illinois Department of Public Health for examination for the presence of Corynebacterium diphtheriae. Several of the cultures were received from Doctor T. G. Hull of the Main Laboratory at Springfield whose interest is appreciated. The cultures with the lower numbers were isolated first and were maintained in the laboratory until a sufficient number had been accumulated for observations. The yeasts were usually first observed in the smears prepared from the blood serum cultures. When they were noticed on these preparations, they were isolated in pure culture by the usual manipulations. After a time, it was found that, when the yeasts were present if the blood serum cultures were allowed to stand at room temperature for three or four days, the typical growth of yeasts appeared. If these fungi were present, they usually appeared as thick white creamy patches or layers on the blood serum. The anamneses were sought in several cases but it was impossible to secure them.

Media: The media used were those commonly found in a bacteriology laboratory along with certain special media for the yeasts. Giant colonies were grown on lactic acid dextrose agar. This investigation was primarily concerned with the behavior of these fungi in the animal organism but a few cultural studies were made to be certain that they

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

did not belong to the fermenting or industrial yeasts. Malt agar and liquid media were also prepared after the formula of Stiritz as follows: 15 grams of agar were added to 400 c. c. of malt drink ("near beer") and 600 c. c. of distilled water. This was heated and held at boiling to dissolve the agar. It was then tubed and sterilized. Just previous to pouring into plates, after melting and cooling, 100 c. c. were acidified by 4 c. c. of a 5 per cent solution of lactic acid which had been previously sterilized. Toward the end of this investigation it was found that malt sugar syrup and malt extract manufactured by the Puri Tan Malt Extract Company of Chicago, when diluted with a sufficient amount of water, gave a good medium for growing yeasts.

Growth on solid media: Vegetation on the solid media used, such as dextrose agar, lactic acid dextrose agar, malt agar, etc., was not especially significant. The growth was abundant in each case and of an opaque white color. It was raised and glistening. Giant colonies were grown on lactic acid dextrose agar at room temperature for 30 days. Vigorous growth was secured on carrot slants as suggested by Rees. The cells from this medium showed a greater tendency to mycelial formations than from certain of the other media. Plain and dextrose gelatin were used to determine gelatin liquefaction. One series of tubes was inoculated by stabbing and another by placing a drop or two of a wort culture on the surface. The dextrose gelatin was used since it was feared that plain gelatin might not allow vigorous enough growth to show liquefaction. It was found that growth and liquefaction were much more vigorous when the carbohydrate was present. These series of tubes were incubated at 20° C for one month. All of the strains liquefied gelatin. On the plain gelatin it was rather slight but when dextrose was present, it was abundant.

Growth in liquid media: Beer wort prepared as described was sterilized in 100 c. c. portions in Erlenmeyer flasks. This was inoculated and incubated at room temperature for several days until growth was apparent. Most of the cultures grew with a heavy sediment and evident ring formation. The ring which was formed in certain of the cultures often broke up easily and fell to the bottom of the flask when disturbed. Cultures 20 and 27 formed a thin veil over the surface of the medium which tended to climb the walls of the container.

Tubes of sterile skimmed milk were also used since this medium has served a useful purpose in differentiating the yeasts. Observations were made after 22 days incubation at room temperature. The milk in each culture tube was divided and a portion tested with litmus and the other portion with brom cresol purple. All cultures were alkaline with the exception of Nos. 16, 20, 24, 27, and the controls which were neutral.

Castellani (14) isolated 22 strains of Endomyces affecting man in the tropics none of which had any action on the constituents of milk, or gelatin. These strains isolated from sore throats in Illinois behave very much like those isolated by Castellani in the tropics. Another series of these fungi isolated from throats in London had similar characteristics.

Shape of cells: Microscopic observations were made on material from carrot slants, the sediment in beer wort cultures and the veil or scum on the surface of these cultures. The size and shape of the cells did not appear to be especially significant. The shapes varied from

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

spherical, oval cells to elongated sausage-shaped cells. The size exhibited considerable variation depending on the medium from which they were taken. Special attention was given to mycelial formation. These structures seemed to be most readily formed in the liquid cultures. In some cases the filaments tended to become quite complex.

Fineman (15) has reported an interesting experiment in this connection. She showed that by depressing the surface tension of a medium (Linossier's medium) with castor oil soap, Oidium albicans tended to take on the typical yeast-like growth and forms of cells while in the same medium with the normal surface tension, there was a greater tendency to vegetate in the mycelial formation. This may offer an explanation for the contradictory statements about the thrush fungi in the literature and suggests the necessity of giving considerable attention to the media used in all microbiological work.

Sporulation: To determine this function examinations were made on cells from carrot slants, Gorodkowas agar medium, gypsum blocks and old dried up dextrose agar slant cultures. Several different methods were used in the examination of these cells for the presence of ascospores.

The importance of this function in classification made it seem necessary to use as many methods as possible. The data on this test seem to indicate that ascospores were not formed in the cells which were examined. Culture 24 formed ascospores on all of the media from which cells were examined. The fermenting abilities of this yeast, its lack of pathogenic properties and the formation of ascospores seems to indicate that this species was one of the common industrial varieties which must have been a chance contaminant in the throat from which it was taken. It was left in the series of cultures which was studied since it acted as a sort of check on the other yeasts which are distinctly different in characteristics.

Hansen's (16) alcohol test gave some evidence of the formation of resistent bodies. These data may lend support to the observations of Linossier and Roux (17) who reported in old cultures of Endomyces albicans the production of resistant forms comparable to chlamydospores. Vuillemin (18) has also described bodies in these fungi which are resistant. No true ascospores, however, could be found in the cells of the pathogenic varieties used.

Fermentation reactions: Fermentation tests were carried out with common carbohydrates in plain tubes and in Durham fermentation tubes. Three series were carried through in order to check as closely as possible the formation of acid and gas. One series of tubes was prepared with sterile peptone broth and sterile sugar solutions sterilized separately in order that no hydrolysis of polysaccharides would take place if they were sterilized together in the same tube, as has been suggested by Mudge (19) and Hasseltine. Another series of Durham fermentation tubes prepared as above containing brom-thymol-blue, as suggested by Baker, was used. A third series of Durham fermentation tubes without the indicator was employed. The medium in these tubes was divided into two portions which were tested with brom-thymol-blue and litmus. The slightest change in the reaction was recorded. Fineman also carried out fermentation reactions using Andrade's indicator. The data from the fermentation reactions are given in Table I.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table I.

Fermentation reactions.

Culture Nr.	Dextrin	Dextrose	Galactose	Inulin	Lactose	Levulose	Maltose	Mannite	Raffinose	Saccharose	Xylose
2	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
3	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
4	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
5	+	+ G	+	±	+	+ G	+	+	+	+	+
6	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
7	+	+ G	+	±	+	+ G	+	+	+	+	+
8	+	+ G	+ G	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
9	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
14	+	+ G	+ G	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
15	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+
16	+	+ G	+	±	+	+ G	+	+	+	+	+
20	+	+ G	+	±	+	+ G	+	+	+	+	+
21	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
22	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
23	+	+ G	+	±	+	+ G	+	+	+	+	+
24	+	+ G	+ G	±	+	+ G	+ G	+	+	+ G	+
25	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
26	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+
27	+	+ G	+	±	+	+ G	+	+	+	+	+
28	+	+ G	+	±	+	+ G	+ G	+	+	+	+

G = Gas production Clark's indicators used, + = Acid, — = Alkaline.

As is true with many of the groups of bacteria, sugar fermentation reactions have served a useful purpose in separating related forms of yeast-like fungi. Castellani (14) who has given much study to this group of fungi employed milk, gelatin, and carbohydrate fermentations for studying the strains which he isolated. Castellani reported a variation in the fermentation of mannite. Acid and gas were found in dextrose, levulose, and maltose. These results were secured with a series of strains isolated in the tropics and also another series isolated in London, in an attempt to see whether the two series showed any differences. Fineman's (15) strains also fermented dextrose, levulose and maltose with the formation of acid and gas; a few strains formed acid or gas in other sugars. The fermenting reactions of the strains used in this investigation and isolated from throats in Illinois, gave results which differ somewhat from those reported by Castellani and Fineman. Their differences, however, are felt to be due to the use of different indicators. Bearing these differences of technic in mind, no outstanding conflictions exist between the papers referred to.

Temperature relations: Tubes of dextrose agar slants and dextrose broth were inoculated and placed in incubators at the following temperatures; 4°, 16°, 45°, and 55° C. The results of these tests are shown in Table II. All of these strains grew well between 16° and 45° C. No growth was secured at 55° C. The organisms were apparently destroyed at this temperature since transfers from these cultures gave no growth, when subsequently incubated at 37° C. None of the cultures grew at 4° C but when the culture tubes were subsequently placed at 37° C good growth occured. This would indicate that 4° C was not a lethal temperature as was 55° C.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Table II.
Effect of temperature upon budding.

Culture No.	4° C	16° C		45° C		55° C
	Dextrose Agar slant	Dextrose broth	Dextrose Agar slant	Dextrose broth	Dextrose Agar slant	Dextrose Agar slant
2	None of the cultures grew	Ring scant +++	+++	+	+	None of the cultures grew
3		+++	+++	++	++	
4		Ring abundant +++	—	++	+++	
5	idem	Ring scant +++	—	—	—	idem
6	"	Ring scant +++	+++	++	+++	"
7	"	Ring scant +++	+++	++	+++	"
8	"	Ring scant +++	+++	+++	+++	"
9	"	+++	+++	++	+++	"
14	"	+++	+++	++	—	"
15	"	Ring scant +++	+++	++	—	"
16	"	Ring scant +++	+++	+++	—	"
20	"	—	—	+++	—	"
21	"	Ring abundant +++	+++	++	—	"
22	"	Ring scant +++	+++	++	+++	"
23	"	Ring abundant +++	+++	+++	+++	"
24	"	+++	—	—	—	"
25	"	Ring scant +++	+++	+	—	"
26	"	Ring abundant +++	—	++	+++	"
27	"	Pellicle and Ring +++	+++	Pellicle +++	+++	"
28	"	Ring +++	+++	+++	+++	"

— = No growth, + = Scant growth, ++ = Moderate growth, +++ Abundant growth.

Pathogenicity studies: The pathogenic properties of the yeasts are being better understood. This phase of the investigation was the one which prompted this work — to determine whether these yeast cells which are so frequently encountered on diphtheria specimens possessed any pathogenic properties when introduced into the animal organism. Skchiwan (20) studied this question by injections of Saccharomyces subcutaneous tumefaciens into the peritoneal cavity and into the blood stream. After introduction into the peritoneal cavity the action of the leucocytes was followed. At intervals of from 5 minutes to 36 hours after injection, portions of the peritoneal fluid were withdrawn for study. These were studied culturally and microscopically. Immediately after the injection of the yeasts the leucocytes seemed to disappear during the period of active phagocytosis. They soon began to appear again. Ingestion of yeast cells by the leucocytes continued for two or three days. At the beginning the yeasts were shown to be viable culturally but viable cells gradually decreased in numbers. Cultures were also injected into the marginal vein of a rabbits ear. Organs in rabbits so treated with the pathogenic yeast and which were killed 10, 20 and 40 hours after injection, showed the presence of living yeast cells. Saccharomyces pastorianus, a non-pathogenic variety, was killed more rapidly than the pathogenic yeast, Saccharomyces subcutaneus tumefaciens. The destruction of both types of yeast seemed to be by phagocytosis. This did not exclude the possibility of destruction by the body fluids. This possibility was studied by placing capillary tubes of the yeast into the body cavities of guinea pigs. The leucocytes

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table III.

Results of inoculations into guinea pigs.

Culture number	Type of inoculation		
	Subcutaneous	Intravenous	Intraperitoneal
2.	A large lesion surrounded by an extended inflammed area was formed. After 15 days a raised area was formed which was very sensitive. The guinea pig recovered slowly.	The animal died within 24 hours. The blood culture from the heart was negative while those from the kidneys and liver were positive.	The animal died in 15 hours. After 14 hours, very pronounced symptoms involving muscular weakness appeared and mucous excretions came from the nose. There were also symptoms of irregular and difficult breathing. On autopsy general septicemic conditions were noted. The stomach and intestines were distended. Cultures from the heart's blood, kidneys, brain and liver showed the presence of yeasts.
3.	An inflammed area with swelling and tenderness appeared about the site of injection. A small raised lesion was apparent at the end of the experiment. (15 days.) The animal recovered.	The animal died within 24 hours. The autopsy indicated that the nostrils seemed to be filled with mucus. The intestines and stomach were distended and the lungs were hemorrhagic. The other internal organs appeared normal. Yeasts were isolated from the lungs, liver, heart blood and brain.	The animal remained normal.
4.	A lesion resulted at the site of inoculation and a slight inflammation was noticed. The animal recovered.	The animal died within 24 hours after inoculation. No autopsy was made.	The animal remained normal and from the autopsy made at the end of 30 days, normal appearances of the organs were noted.
5.	Inflammation was caused over a large area on the abdomen and a small lesion was formed at the site of inoculation. The animal recovered.	The animal remained normal and recovered.	The animal remained normal.
6.	A lesion with a more extended inflammed area was observed at the site of inoculation. As time progressed this became smaller and smaller. The animal recovered.	The animal died in 24 hours. Cultural studies from the heart's blood, kidneys and liver were positive. Cultures from the lungs were positive and a culture from the brain showed that organ to be heavily seeded with the yeast. The lungs were hemorrhagic and the lobes of the liver blackened.	The animal remained normal.
7.	A large inflammed area was formed about a suppurative lesion at the site of injection. The animal recovered.	The animal died within 48 hours. Upon autopsy the lungs proved to be badly congested and hemorrhagic. The other organs appeared normal. Cultures from the brain, spleen, kidneys and liver were strongly positive while a culture from the lungs was negative,	The animal remained normal.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Culture number	Type of inoculation		
	Subcutaneous	Intravenous	Intraperitoneal
8.	A large inflammed area which was tender was formed. At the site of inoculation an open lesion was formed which persisted for a long time. The animal recovered.	The animal died in 24 hours. Cultures from the heart's blood and lungs were negative while cultures from the liver, kidneys and spleen were positive. A culture from the brain was strongly positive. Before death there were secretions from the nostrils and mouth; after death the internal organs appeared normal.	The animal remained normal. An autopsy made 30 days after inoculation showed the internal organs to be normal.
9.	A large open lesion was formed at the site of inoculation about which there was an extended inflammed area. This lesion slowly decreased in size. The animal recovered.	The animal died in 24 hours. Cultures from the liver, kidneys and heart's blood were positive and a culture from the brain was strongly positive. Before death there was labored breathing and a paralysis of the muscles. Autopsy showed the lungs to be hemorrhagic while the other organs appeared normal.	The animal remained normal.
14.	A medium sized lesion was formed about which there was an extended area of inflammation. The lesion ruptured, discharged and healed. The animal recovered.	The animal died in 24 hours. Labored and jerky breathing were noted and also a paralysis of the muscles. Cultures from the heart's blood were positive and a brain culture was heavily seeded. Upon autopsy the lungs seemed to be hemorrhagic while the other organs appeared quite normal.	The animal remained normal.
15.	A small lesion was formed at the site of inoculation. The animal recovered.	The animal died in 48 hours; no autopsy was made.	The animal remained normal. Thirty days after inoculation the autopsy showed no abnormalities.
16.	No lesion or inflammed area resulted. The animal remained normal.	The animal remained normal.	The animal remained normal.
20.	No lesion was formed and the animal presented a continued normal appearance.	The animal remained normal.	The animal remained normal. Thirty days after inoculation the autopsy showed no abnormalities.
21.	A lesion was formed at the site of inoculation about which there was a very extended area of inflammation. It ruptured, discharged and healed.	The animal died in 4 days. Before death generalized paralysis appeared and the animal seemed to be completely exhausted. A culture from the kidneys was positive while those from the heart's blood, liver and lungs were negative. A culture from the brain was strongly positive. From the autopsy the internal organs appeared to be normal.	The animal remained normal.
22.	A persistent lesion was formed at the site of inoculation. A scar was noticed at the end of the period of observation and it had not entirely healed. The animal recovered.	The animal died in 24 hours. The autopsy showed the lungs to be quite hemorrhagic. The heart's blood contained a few yeast cells but the brain seemed to be thickly seeded with them.	The animal died 34 days after injection. Cultures from the brain were positive. From the autopsy the lungs appeared hemorrhagic. The intestines and stomach were greatly distended and a false membrane seemed to fuse parts of the liver to the stomach and the stomach to the peritoneum.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Culture number	Types of inoculation		
	Subcutaneous	Intravenous	Intraperitoneal
23.	A lesion was formed at the site of inoculation about which was an extended area of inflammation. This lesion became suppurative and healed. Yeasts were found in the pus which was discharged from the lesion. The animals recovered.	The animal died within 24 hours. Before death a paralysis and general weakening was noted. Cultures from the pericardium and the heart's blood were positive. The brain was heavily seeded with the yeast. The autopsy showed the stomach to be greatly distended.	The animal remained normal.
24.	No lesions resulted. The animal remained normal and recovered. No autopsy was made.	The animals remained normal.	The animals remained normal.
25.	A small lesion was formed at the site of inoculation. This broke after a few days and the pus showed the presence of yeast cells. The animal recovered slowly.	The animal died in 24 hours. Culture from the hearts blood was negative, while cultures from the brain, spleen and liver were strongly positive. From the lungs only one colony developed. Autopsy showed the lungs to be hemorrhagic.	The animal remained normal.
26.	A small lesion was formed at the site of inoculation. This broke after a few days and a scar resulted. The animal recovered.	The animal died in 24 hours. No autopsy was made.	The animal remained normal.
27.	A small lesion surrounded by an extended inflammed area resulted. A small open lesion persisted for some time. The animal recovered.	No symptoms resulted and the animal remained normal.	The animal remained normal.
28.	A lesion resulted which was surrounded by an extended inflammed area. This slowly decreased in size. The animal recovered.	The animal died in 24 hours. No autopsy was made.	The animal remained normal.

Results of inoculations into guinea pigs.

	Subcutaneous	Types of inoculation Intravenous	Intra-peritoneal
A bread yeast isolated from compressed yeast.	400 000 000 cells injected. A very small lesion resulted and the animal recovered soon.	The animal remained normal.	
Other non-pathogenic yeasts.		Injection of Brewers' Yeast, Saccharomyces ellipsoideus, Mycoderma monosa, Vinegar Yeast, Torula datilla and Mycoderma lactis gave negative results. The animals remained normal for over 30 days.	

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

were said to have been kept out by a feeble chemotaxis. These tubes were practically free from leucocytes and gave good growth by Skchiwan. The possibility that the blood serum was germicidal was also studied. Yeast cells in collodion sacs were exposed to any lytic agents that might be present in the peritoneal cavity. These sacs were removed from one to three days and always gave good growth. Phagocytosis, then, seems to best explain the destruction of yeasts introduced under experimental conditions into the animal body. Foulerton's (5) work has confirmed this. He was able to find in some cases as many as three yeast cells in a leucocyte.

The pathogenicity studies were made with guinea pigs, white mice and rabbits. All of these animals were in apparent good health at the beginning of the experiment. In an attempt to "tune up" the cultures, they were propagated for 24 hours on fresh rabbits blood dextrose agar slants. The growth was luxuriant in all cases. This was scraped oft and taken up in a sterile physiological sodium chloride solution just before injection into the animals. In this manner a rather heavy injection of cells was given. All animals were kept under continuous observation for 30 days.

Experiment on guinea pigs: Three types of inoculations were made into guinea pigs. Suspensions of the yeasts from dextrose blood agar slants were injected intraperitoneally, subcutaneously, and intravenously. White guinea pigs were used with the subcutaneous injections since it was easier to follow the changes which took place around the site of injection. After these injections the guinea pigs were examined carefully and frequently. The subcutaneous injections were followed by a raised area which became very tender. In several cases the skin broke allowing the lesion to drain. Often slow recovery took place. Specimens from these lesions always showed large numbers of living yeast cells.

The intravenous injections into guinea pigs were made after the procedure of Roth. One c. c. portions of the cultures in physiological sodium chloride solution were given. These had been previously grown on dextrose, blood agar slants. The results of the experiments with guinea pigs are given in Table III (p. 289).

The results of inoculations in guinea pigs indicate that the pathogenic yeasts must be introduced into the blood in large numbers to accomplish serious results. Subcutaneous and intraperitoneal injections into guinea pigs hardly ever resulted in the death of the animals. While with most of the subcutaneous injections of yeasts, a large swelling occurred, a different train of symptoms resulted from intravenous injections. In most cases the guinea pigs died within twenty four hours, it being possible to isolate living yeast cells from most of the internal organs. It may be especially significant that they were always isolated from the brain when they could not be isolated from other internal organs. When they were isolated from the other internal organs, they were always isolated in greater numbers from the brain.

Experiments on rabbits: Intravenous injections only were made into rabbits. The suspensions were prepared in the same manner as outlined above. These injections indicated again the effect of introducing the yeasts directly into the blood stream. In many of the cases the animal died quickly. Others remained normal. The results of these experiments are shown in Table IV.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Table IV

Results of intravenous injections into rabbits.

Culture Number	Remarks
2	The rabbit died within 24 hours after inoculation. The intestines were distended with gas while the lungs were congested and hemorrhagic. Cultures from the heart's blood were negative while those from the brain were strongly positive for yeasts.
3	The rabbit died within 24 hours after inoculation. Autopsy revealed a hemorrhagic conditions of the lungs. The stomach and intestines were distended with gas. Yeasts were obtained in cultures from the heart's blood, brain, liver, kidneys and lungs.
4	The rabbit died within three days after inoculation. The kidneys were covered with white patches from which living yeasts cells were secured by culture. Yeast cells were also secured from the brain, hearts blood, spleen and lungs.
5	The rabbit remained normal for over 30 days.
6	The rabbit died within 24 hours after inoculation. Autopsy revealed a hemorrhagic condition of the lungs with pronounced dilatation. The spleen had taken on a darkened color. Yeast cells were demonstrated in the brain, lungs, and blood. The brain seemed to be especially heavily seeded.
7	The animal died in 24 hours. The lungs were hemorrhagic. The liver and spleen were livid. Cultures from the heart's blood were negative; cultures from the brain positive.
8	The rabbit died within three days after inoculation. Before death the animal was very restless and exhibited a loss of muscular coordination. At autopsy stomach was found to be slightly dilated. The other organs appeared to be normal. Cultures from the heart's blood, liver, and lungs were negative for yeasts while those from the brain and kidneys were decidedly positive.
9	The rabbit died within 48 hours after inoculation. At autopsy the lungs were found to be extremely hemorrhagic. Cultures from the heart's blood were negative while those from the brain were positive.
15	The rabbit died within 24 hours after inoculation. At autopsy the intestines were found to be distended with gas. The lungs were decidedly hemorrhagic. Yeasts were demonstrated in the brain and heart's blood by cultures.
16	The animal remained normal for 30 days.
20	The animal remained normal for 30 days.
21	The rabbit died within 24 hours after inoculation. The lungs were congested but the other organs appeared to be normal. Cultures revealed the presence of yeast cells in the heart's blood and brain.
22	The rabbit died within 24 hours after inoculation. The spleen was livid and the lungs were slightly congested. Cultures from the brain, liver, spleen, kidneys and lungs were positive.
23	The animal died within 24 hours after inoculation. Dark red spots were noticed on the lungs. The lobes of the liver were darkened in color. Yeasts were demonstrated in the liver and brain.
24	The rabbit remained normal for over 30 days.
25	The rabbit died within 24 hours. The lungs were slightly congested. Cultures from the pericardial fluid, kidneys, liver, heart's blood and brain were positive.
26	The rabbit died in three days. The stomach was distended and the liver, spleen and kidneys were livid. The lungs were hemorrhagic. Cultures from the brain, liver and kidneys were positive.
27	The animal remained normal for over 30 days.
28	The rabbit died in 24 hours after inoculation. The liver was slightly darkened. The lungs were congested. Yeasts were demonstrated by cultures in the liver, lungs, brain and kidneys.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Experiments on white mice: Intraperitoneal injections only were made into mice. This set of data also indicates the pathogenicity of these fungi. Yeast cells were found in the various organs of the body. The results of these experiments are shown in Table V.

Table V.

Results of intraperitoneal injections of yeasts into white mice.

Culture number	Remarks
2	The animal died within 24 hours after inoculation. The brain was removed for sectioning. Presence of yeasts cells were thus shown.
3	The animal died within three days after inoculation. Part of the spinal cord was rubbed over an agar slant. Yeast cells developed. Sections of the brain revealed the presence of yeast cells.
4	Animal died in 4 days. Cultures from the brain were positive.
5	Animal died in 48 hours. Cultures from the brain positive.
6	Animal died after 22 days. The internal organs seemed normal except a darkening of the liver. The spleen was also darkened. Cultures from the brain and spleen were negative while those from the lungs were strongly positive.
7	The animal died within 48 hours after inoculation. Cultures from the brain were negative.
8	Animal died in 24 hours. Cultures were not made.
9	The mouse died in 4 days after inoculation. An inflammed area was noticed about the anus. The internal structures were covered with white patches. All of these white patches as well as the lungs and brain contained yeasts.
14	The animal died within 24 hours after inoculation. Yeasts were demonstrated in sections of the brain.
15	The animal died 11 days after inoculation. A few white patches were seen on the liver. On large white raised patch covered the spleen. There were pronounced lesions on the heart and kidneys also. White patches existed also on the mesenteries, liver and intestines. Cultures from these patches were positive for yeasts in cultures.
16	The animal died 8 days after inoculation. Many white patches were present on the liver. A few were scattered on the intestines and mesenteries. One patch existed on the right kidney. The other organs appeared to be normal. Cultures from the brain and the white patches were positive for yeasts.
20	The animal died 4 days after inoculation. Gas formation had distended the stomach and intestines. A few white patches were noticed on the mesenteries while the other organs appeared to be normal. Cultures from the heart, kidneys, lungs, and spleen were positive. A culture from the spinal cord was negative.
21	The animal died seven days after inoculation. Before death the animal was extremely emaciated and exhibited labored breathing. At autopsy the peritoneum was found to be covered with white patches. Much thicker patches were found on the liver, spleen, mesenteries, stomach and heart. Cultures for yeasts were positive from the heart, liver, spleen, and lungs. Cultures from the spinal cord were negative.
22	The animal died within 24 hours after inoculation. Cultures from the brain revealed the presence of yeasts.
23	The animal died 27 days after inoculation. Patches were found on the peritoneum, mesenteries, intestines, liver, spleen and stomach. The spleen was almost completely covered by a large white coating. The liver exhibited

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Culture number	Remarks
	only a few of these patches. The heart and lungs were free. Cultures from these patches were strongly positive for living yeast cells. Cultures from the brain and heart were positive.
24	The animal remained normal for 30 days after which time observations were stopped.
25	The animal died 10 days after inoculation. Fecal material had collected about the anus. Raised, firm white patches existed on the peritoneum, mesenteries, spleen, kidneys, liver and intestines. The organs of the peritoneal cavity all seemed to be covered. The testicles also were covered. Cultures from the brain were positive.
26	The animal died 7 days after inoculation. At autopsy white nodules were found on the peritoneum, mesenteries, liver, heart, spleen and kidneys. They also existed in greater numbers on the pericardium and intestines. Cultures from the lungs, brain, kidneys and liver were positive.
27	Animal remained normal for 30 days when observations were stopped.
28	The animal died 10 days after inoculation. Masses of white raised areas were seen on the peritoneum. Few were seen on the liver. Lesions existed on the heart, mesenteries, spleen, and kidneys. Cultures from the lungs and the raised patches on the peritoneum were positive for yeasts.

Are the ordinary industrial fermenting yeasts pathogenic? This phase of the question has also been studied by former investigators. Neumayer (1) carried out experiments to determine whether the yeasts in foods and beverages could produce undesirable resulte when introduced into the alimentary tract. He reported that the yeasts were resistant to the digestive juices and that they might pass through the intestinal tube of man and animals without losing their fermenting properties. Inconvenience only followed the ingestion of yeasts and this was due to fermentation of the carbohydrates which were taken with the yeasts. Injections of small doses of such yeasts were never found to be dangerous and they seemed to be quickly destroyed. Anderson (21) in 1917 seems to have confirmed the work of Neumayer. Non-pathogenic yeasts when fed in large masses, resisted the digestive juices and appeared in the feces. The sprue organism, according to Anderson, was retained for a longer time in the intestinal tract. Emig (22) in 1916 also sought to determine the pathogenicity of yeasts in nature. About 850 sources were examined for yeasts. Only twelve strains were found which would grow on blood serum. Six of these were Torulae. Saccharomyces cerevisiae was isolated from a cake of compressed yeast. Rabbits and guinea pigs were injected with cultures of these yeasts. In no case did death follow the injection of the yeasts. In several cases white spots were found on the liver. These, however, gave no growth when transferred to culture media. The death of the animals, which did succumb, was attributed to coccidia. Raum (23) in 1891 at a much earlier date used Saccharomyces pastorianus and Saccharomyces cerevisiae in similar investigations. When massive doses of the yeasts were given death often resulted, being preceded by a lower temperature and collapse after intravenous injections. Rabinowitch (24) injected a number of yeasts into animals and reported only a few to be pathogenic when injected in large doses. Most

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

of them were pathogenic for mice. None were pathogenic for guinea pigs. Rabinowitch believed that yeasts could cause infection in the blood stream. A similar investigation has been reported by Gilkinet (25). Injections of Saccharomyces cerevisiae were given rabbits intravenously. They were then killed after 6, 24 and 72 hours. By means of cultural studies, the yeasts were isolated from the organs of the rabbit killed after six hours. It could not be detected in the other rabbits. Foulerton (5) reported data on this question. He used the following pure cultures of common yeasts: Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces pastorianus (three varieties), Saccharomyces ellipsoideus, Saccharomyces albus, Saccharomyces albus liquefaciens, Saccharomyces anomalus, Saccharomyces albicans and a species of red yeast. In contrast with these nonpathogenic yeasts a culture of a yeast which had been isolated from the mucosa of the throat in several cases of pharyngitis, was also used. Foulerton presented in detail the results with each culture and each experimental animal. One is impressed with the number of infections and pathological changes caused by the injections of yeasts which are ordinarily considered nonpathogenic. In many instances tumors were formed at the site of injection; death often occurred in periods ranging from 48 hours to fifty days. Foulerton's work with the culture from sore throat has been discussed above. Turro (26) and his colleagues studied the injections of yeast on the course of experimental septicemia in rabbits. The yeast cells were said to be phagocytized and disappeared quite quickly. It was claimed that the yeast cells decreased the virulence of staphylococci and streptococci in such experimental infections. For such far-reaching, conclusions, however, the data seem a little inadequate. The injected yeasts, however, seemed to cause no untoward symptoms.

In our investigations several different so-called nonpathogenic yeasts were used to serve as checks against the supposedly pathogenic varieties from the throat swabs. One variety was isolated from milk. When this was injected into a rabbit intravenously, no symptoms of illness were observed. The animal remained well for a long time. Stock cultures of brewers' yeast, Saccharomyces ellipsoideus, Mycoderma monosa, yeast from vinegar, Torula datilla, and Mycoderma lactis were prepared for injection in exactly the same manner as outlined above for the throat yeasts. When these were injected into rabbits intravenously, no symptoms resulted. The animals remained normal in every respect. These data are not in accord with the conclusions of Foulerton. Another nonpathogenic variety was isolated from a cake of Fleischman's compressed yeast and injected intraperitonealy into a white mouse and intraperitoneally into a guinea pig. These animals remained well for 30 days. The same results were secured with the above yeasts with intravenous injections into guinea pigs. A subcutaneous injection of 400 000 000 cells of the yeast isolated from the compressed yeast cake was given to a guinea pig. A very small lesion appeared at the site of injection but it soon healed.

Agglutination reactions: Several investigators have stated that serum reactions may be used for separating and identifying the yeast-like fungi and diagnosing cases of such infection. Widal (27) and his colleagues studied the agglutination reactions of the etiologic agents in certain closely related fungus diseases. Agglutination reactions were said to

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

be specific. Sporotrichum Beurmanni, the Actinomycetes, and the thrush fungus were said to belong to the same group, as far as the serum reactions were concerned. Roget (28), also reported a specificity of agglutination reactions for the yeast-like fungi. Lichtenstein (29) made use of the agglutination reactions for identifying pure cultures of yeasts. By means of agglutination reactions with serums prepared in rabbits, he was able to distinguish several kinds of Saccharomyces, to distinguish between top and bottom yeasts, and to distinguish the Torulae from the Saccharomycetes. In a more recent report on his experiments along this line, he extended his work to the algae and the flagellates. With immune rabbit serums, he was able to establish a fairly accurate grouping of various algae (Chlorella protothecoides, Prototococcales, and Stichococcus) and the flagellates (Euglena gracilis, Astasia ocellata and Polytoma). Lichtenstein used Euglena with and without chlorophyll but could establish no specific immune reactions on this basis. He concluded therefore that only the true protoplasmic or nuclear substances were concerned in cell specificity. As stated above Breed reported that the serums of two patients gave positive agglutinating reactions with the etiologic agent in the infection. Fineman (15) reported the preparation of agglutinating serums with fungi of this group. The antigens were prepared by taking the growth from agar slants and heating the cells at 55° C. for 1 hour. 2 c. c. of these suspensions were injected into rabbits at 3 day intervals for four times. One week after the last injection blood serum was prepared for agglutination reactions the dilutions being 1—10, 1—20, and 1—50. Fineman did not find agglutinating reactions to be of value either for identification or diagnostic purposes, thus, differing from the conclusions of Lichtenstein. Stoddard and Cutler (30) also tested the agglutinating reactions of the serums from animals receiving injections of pathogenic Torulae. Dilutions of serums of 1—20, 1—100, and 1—5000 were made. Negative results were secured. They then prepared lower dilutions than those mentioned above but these also gave no agglutination.

In this investigation cultures No. 2 and 6 were selected for serological study because they were so virulent. These cultures were transferred to rabbit blood agar and after growth took place the cells were taken up in sterile physiological sodium chloride solution. A drop of tricresol was added and the suspension heated to 55° C. These served as the antigens with which to immunize the rabbits. This antigen was injected intravenously in 1 c. c. quantities 2 days apart. At least four injections were given and the animals were bled about 6 days after the last injection. Both microscopic and macroscopic agglutination tests were used. The microscopic agglutination tests, however, proved to be unsatisfactory. Dilutions of 1—50, 1—100, 1—200, 1—400, 1—800, 1—1000, and 1—2000 were made. All of these dilutions with the exception of the 1—2000 gave positive agglutination reactions. The controls were negative. The cultures used in these agglutination reactions were young (24 hours old or less) and were grown on dextrose agar; the cells were taken up in sterile physiological sodium chloride solution in the usual manner. The macroscopic tests were incubated at 37,5° over night. While our data on the agglutination reaction is too meager to allow extended conclusions we feel that further study should be given this

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reaction; it might be found to have value in identification of these closely related fungi and be serviceable in diagnosis.

Tests on phagocytosis: A large guinea pig was selected for an experiment to determine the possibility of injected yeast cells being destroyed by phagocytosis. A heavy suspension of the cells of this yeast was injected intravenously and intraperitoneally. Samples of the blood and peritoneal fluid were collected every four hours for a day and smeared on slides for staining with Wright's stain. At the end of 4 hours phagocytosis was well under way. The yeast cells could be seen within the leucocytes. Schattenfroh (30) reported that yeast cells which were introduced into experimental animals were ingested by the leucocytes and destroyed. Our short experiment convinced us of the truth of this assertion which may be found repeatedly in the literature on these organisms.

Systematic relationships: With one exception the fungi which were used in this study have the salient characteristics in common. They did not form ascospores, liquified gelatin readily and fermented maltose, dextrose and levulose. These have been the characteristics most useful in separating these closely related fungi.

Robin in 1853 named the thrush fungus Oidium albicans a name which was indeed ill-founded and which has been almost universally dropped by investigations in this field. The oidia are characterized by aerial hyphae and other characteristics not common among the thrush fungi. In 1870, Reess gave the thrush fungus the name Saccharomyces albicans because he thought that he saw ascospores. After pure cultures were available and more accurate methods of working had been perfected, ascospores became conspicuous by their absence. This would certainly exclude the parasite from Saccharomycetes since ascospore formation is the first prerequisite for inclusion in this genus.

Vuillermin in 1898 confirmed the presence of ascospores and incorporated it with Endomycetes. It had been previously placed with Monilia by Hansen. Vuillemin placed it in Endomycetes and not with Saccharomyces because it formed ascospores produced a mycelium and formed asci in mycelial cells and not in the yeast cells. Saccharomyces forms no mycelium and forms asci in yeast cells. Vuillermin's work has been confirmed by Daierewa in 1899 but since then ascospores have not been observed by any of those who have worked with the group. It is quite probable that Vuillemin had another parasitic fungus. This is partly indicated by the fermenting abilities of the fungus with which he worked and its lack of ability to liquefy gelatin. The strains which Finemans tudied did not liquefy gelatin.

The absence of ascospores in the fungi reported in this investigation even after a number of different methods had been used to demonstrate their presence together with the fermentation reactions and gelatin liquefying properties causes us to believe that the thrush parasite which we have studied should be referred to the Monilia as suggested by Reess, Hansen, Zopf, Craik and others. An algebraic sum of the characteristics of these strains and the various possible genera leads us to this genus.

It is possible that what Castellani has observed for these fungi found in tropical infections, may hold for those found in the temperate climates. He has stated that the thrush fungi include very likely different species and that they may even belong to different genera. When in Europe in 1913 the study of a series of cultures collected in London led him to the same conclusions. Castellani pointed out the error of using only morphological characters for study and suggested that the physiological characters be included and given more attention. Castellani concluded that the thrush fungi of the temperate zone were made up of a heterogeneous group of microorganisms. Fineman in a recent investigation in America referred them to the Oidia on account of the formation of Chlamydospores and not ascospores. If Castellanis hypothesis is not correct, it is still possible that there are different varieties of the same species which would cause difficulties in classification on account of intergrading characters.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Conclusions.

1) Twenty two strains of yeast like fungi collected from throat swabs were studied culturally and morphologically. They possessed characteristics which probably classes them with the thrush fungi. Since ascospores were not found they are probably Endomyces or Monilia.

2) Inoculation experiments using white mice, guinea pigs, and rabbits indicated that all but one strain possessed pathogenic properties for the animals used. Subcutaneous injections into guinea pigs were least harmful. The intraperitoneal injections into the same animals were also practically harmless. The intravenous injections into these animals were decidedly harmful. In the case of the rabbits death followed in a short time. Intraperitoneal injections into white mice were also harmful, terminating fatally.

3) Non-pathogenic yeasts prepared for injection in the same manner as the pathogenic varieties and injected into animals caused no symptoms of illness. With one exception they seemed to be harmless. These animals remained in normal condition for 30 days.

4) Agglutinins were formed in rabbits in the preliminary experiments carried out. This problem merits further investigation.

5) Yeasts when introduced into susceptible animals are probably destroyed by phagocytosis.

6) The presence of yeast cells on swabs from sore throats should be reported to the physician. In this manner the symptoms of the disease in the absence of other bacteria, for instance, Corynebacterium diphtheriae may be explained and proper treatment given.

7) No new species were named.

Literature.

1) Arch. f. Hyg. Bd. 12. 1891. S. 1—60. — 2) Arch. de med. et anat. path. T. 5. 1893. p. 29—37. — 3) Ibid. T. 11. 1899. p. 1. — 4) Ibid. T. 5. 1893. — 5) Journ. Path. and Bact. Vol. 6. 1899. p. 37—63. — 6) St. Paul, Med. Journ. Vol. 6. 1904. p. 649. — 7) Colorado Med. Journ. Vol. 6. 1900. p. 485. — 8) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1906—1907. p. 49—69. — 9) Ibid. Abt. II. Bd. 54. 1910. p. 108. — 10) Arch. int. Med. T. 10. 1912. p. 108—121. — 11) Journ. Inf. Dis. Vol. 19. 1916. p. 89—96. — 12) Compt. rend. Soc. Biol. T. 82. 1919. p. 1343. — 13) Arch. Dermatol and Syph. Vol. 5. 1922. p. 332—334. — 14) Arch. de parasit. Vol. 16. 1913—1914. p. 184—186; Annals. Inst. Past. T. 30. 1916. p. 149—154. — 15) Journ. Inf. Dis. Vol. 28. 1921. p. 185—200. — 16) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. p. 466—488. — 17) Arch. de med. experim. et d'anat. path. T. 1. 1890. p. 62. — 18) Bull. Soc. myol. de France. T. 27. 1911. p. 137. — 19) Journ. Bact. 1916. Vol. 2. p. 403—416; Hasseltine. Pub. Health Repts. Vol. 32. 1917. 1879—1887; It is interesting to note that Wolfe (Brit. Journ. Exp. Path. Vol. 2. 1901. p. 266—275) has not confirmed this in every respect. — 20) Ann. de l'Inst. Past. T. 13. 1899. p. 770—777. — 21) Journ. Inf. Dis. Vol. 21. 1917. p. 341—386. — 22) Ann. Miss. Bot. Garden. Vol. 3. 1916. p. 243—307. — 23) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891. S. 1—50. — 24) Ibid. Bd. 21. 1896. p. 11. — 25) Arch. de méd. expér. 1897. p. 88—901. — 26) Centralbl. f. Bakt. Abt. V. Orig. Bd. 34. 1903. S. 22—28. — 27) Ann. l'Inst. Past. T. 24. 1910. p. 1. — 28) Bull. med. Vol. 12. 1896. 652. — 29) Sitzungsber. Preuss. Akad. Wiss. 1922. S. 127—134; Arch. Physiol. 1914. p. 525—532. — 30) Monograph. Rockefeller Instit. No. 6. 1916. — 31) Arch. f. Hyg. Bd. 37. S. 234—236. — 32) Brit. Med. Journ. 1913. Vol. 2. p. 1460; Lancet. 1913. Vol. 2. p. 44.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Weitere Anwendungen des Entfärbungsvermögens der chinesischen Tusche in der bakteriologischen Technik[1]).

[Aus dem Hygienischen Institut der Königl. Universität Turin (Direktor: Prof. L. Pagliani).]

Von Dr. **Giuseppe Mirone.**

In einer früheren Veröffentlichung stellten Graziadei und Mirone fest, daß die zuvor mit den gewöhnlichen basischen Anilinfarben gefärbten Keime, wenn sie dann mit reiner oder verdünnter chinesischer Tusche behandelt werden, augenblicklich entfärbt werden und mit vollständig farblosem Leibe auf dunklem Grunde erscheinen, wie wenn der Mikroorganismus nach dem einfachen Burrischen Verfahren behandelt worden wäre.

Bei weiterer Prüfung und Anwendung der Methode auf verschiedene Mikroorganismen wurde nachgewiesen, daß, wenn chinesische Tusche auf bereits nach Ziehl gefärbten, sporenhaltigen Keimpräparaten ausgestrichen wird, der Bazillenleib sich rasch entfärbt, während die Sporen rot gefärbt bleiben. Mit diesem Verfahren werden recht überzeugende dreifarbige Präparate erhalten.

Gestützt auf obigen Befund, nämlich die ausgebliebene Entfärbung der säure- und alkoholfesten Sporen, dehnte ich die Methode auf die Gruppe der säure-alkoholfesten Keime, Tuberkel- und Pseudotuberkelbazillen aus.

Die Untersuchungen wurden ausgeführt an Stämmen von Tuberkelbazillen, Smegmabazillen, Butterbazillen und Streptotricheen aus dem Mailänder serotherapeutischen Institut.

Die angewendete Technik war folgende: eine ganz kleine Menge Kulturbelag wird auf zweckmäßig gereinigten Objektträgern ausgestrichen; die Ausstreichung des Materials ist ein sehr heikles Moment, und von ihr hängen die guten Erfolge ab, die ich später darlegen werde. Ich betone diese Einzelheit um so mehr, als die Schwierigkeit bekannt ist, mit der eine Emulsion des Kulturbelages des Tuberkelbazillus und der Pseudotuberkelbazillen erhalten wird. Es ist zweckmäßig, Präparate von sehr jungen Kulturbelagen herzustellen, wenige Tage beim Tuberkelbazillus, 24 Std. bei den anderen Keimen. Auf diese Weise kann man leichte Keimemulsionen und Präparate mit seltenen Bazillengruppierungen erhalten. Das an der Flamme fixierte Präparat wird warm nach Ziehl gefärbt, abgespült und mit Fließpapier oder an der Flamme getrocknet; in letzterem Falle muß man erkalten lassen. Darauf läßt man auf einen Teil des Objektträgers einen mittelgroßen Tropfen chinesischer Tusche fallen und streicht ihn mit einem Glasstäbchen in ziemlich dünner und gleichmäßiger Schicht auf dem Objektträger aus. Um gute Präparate zu erhalten, muß man langsam ausstreichen und sanft auf den Objektträger drücken. Die verwendete Tusche war Marke Günther Wagner.

Der warm nach Ziehl gefärbte und darauf mit Tusche behandelte Tuberkelbazillus entfärbt sich nicht; auf dem schwarzen Grunde des

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. Carl Muth in Heldenbergen (Oberhessen).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Präparates sticht deutlich der rot gefärbte Bazillus hervor. Dies tritt bei den Keimen von ganz jungen, 8—10 Tage alten Kulturen wie auch bei alten Kulturen ein. Die Tuberkelbazillen im Sputum, im Urin verhalten sich auf dieselbe Weise. Auch in den zuvor nach dem Ziehl-Neelsenschen Verfahren gefärbten Präparaten widerstehen die Tuberkelbazillen der Entfärbung durch chinesische Tusche.

Der Smegmabazillus und der Butterbazillus sowohl aus jungen wie aus alten Kulturen entfärben sich dagegen, wenn sie demselben Verfahren unterzogen werden. Damit aber die Entfärbung der Keime gut erfolge, muß das Untersuchungsmaterial gleichmäßig ausgestrichen sein, da, wenn Keimgruppierungen vorliegen, die Entfärbung nur teilweise erfolgt.

Bemerkenswert ist auch die Entfärbung der Streptotricheen, die sich jedoch an dem angeschwollenen Ende der Keulenformen nicht entfärben, wo einige intensiv und gleichmäßig gefärbte Punkte verbleiben, die durch ihre Morphologie an die Spore erinnern.

Die Gruppe der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen sodann verhält sich wie die Pseudotuberkelbazillen und die Streptotricheen wodurch ihre Verwandtschaft weiter bekräftigt wird. Bei alten Kulturen weisen die in der Wärme mit basischem Fuchsin gefärbten und darauf mit chinesischer Tusche behandelten Keime in den Keulenformen eine gefärbte Stelle auf, die die Empfindung eines sporenähnlichen Bildes gibt. Jedoch ist nach meiner Ansicht dieses Bild, das der Entfärbung widerstanden hat, nicht so scharf, daß man denken könnte, es sei etwas Organisiertes; vielmehr zeigt es Nüancen, was annehmen ließe, daß die Keulenformen der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen der genannten kolbigen Anschwellung entsprechend eine Art Rille haben, in der die Farbe sich reichlich ablagert und dann nur schwer durch chinesische Tusche entzogen wird.

Es wird also mit chinesischer Tusche die Entfärbung der bereits nach Ziehl gefärbten Pseudotuberkelbazillen erhalten, während sich der Tuberkelbazillus nicht entfärbt. Dieses Verhalten läßt vermuten, daß der Mikroorganismus mit einer an Lipoidstoffen reichen Membran ausgerüstet ist, so daß er der Färbung durch Anilinfarben eine erhebliche Schwierigkeit entgegensetzt, aber, einmal gefärbt, die Farbe schwierig abgibt.

Es ist nicht die Aufgabe vorliegender Mitteilung, in Erörterungen darüber einzutreten, welchem der Bestandteile der chinesischen Tusche hauptsächlich die entfärbende Wirkung zukomme. Gewiß ist ein großer Wert der absorbierenden und entfärbenden Eigenschaft der kleinsten Kohleteilchen beizumessen, die die chinesische Tusche bilden. Die Erscheinung tritt mit allen Tuschen ein, die sich im Handel befinden, sowohl mit der Tusche, die man durch Auflösung der aus China kommenden Originaltäfelchen in Wasser erhält, wie auch bei Verwendung des einfach in Wasser verdünnten Schwarz der Tintenfische.

Was endlich zu beachten ist, ist die bedeutende Schnelligkeit, mit der sie ihre Wirkung entfaltet, und somit die augenblickliche Entfärbung, eine Erscheinung, die nicht verglichen werden kann mit der Wirkung der Alkohole und der Säurelösungen, die langsamer wirken.

Juli 1923.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Biologie von Dictyostelium mucoroides Bref.

[Aus dem Protozoenlaboratorium des Reichsgesundheitsamtes (Leiter: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. A. Schuberg).]

Von Dr. **W. v. Schuckmann,**
Regierungsrat im Reichsgesundheitsamt.

Mit 1 Abbildung im Text.

Dictyostelium mucoroides[1]), ein amöbenartiger, in mehr als einer Hinsicht interessanter Organismus, der 1869 von Brefeld (1) auf Tierkot gefunden wurde, ist vor allem durch die Bildung sporangienartiger Fruchtkörper ausgezeichnet. Er wird deshalb, mit einigen ihm nahe verwandten Gattungen (Polysphondylium, Acrasis, Guttulina, Guttulinopsis, Coenonia und Sappinia) zur Unterordnung der Acrasieae vereinigt, der Protozoenordnung der Mycetozoen oder Myxomyceten zugerechnet, häufig jedoch als Pseudomyxomycet bezeichnet, weil er sich von den typischen Mycetozoen durch das Fehlen eines begeißelten Schwärmstadiums und durch gewisse Abweichungen bei der Sporangienbildung (s. u.) unterscheidet. D. m. wurde bisher von Brefeld (1, 2), van Tieghem (15), Grimm (3), Nadson (5), Olive (8), Potts (10), Pinoy (9) und Skupienski (14) genauer untersucht und neuerdings von Oehler (7) zusammen mit Nahrungsbakterien auf 1-proz. Wasseragar ohne Nährstoffzusatz gezüchtet. Dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Sanitätsrat Dr. Oehler-Frankfurt a. M. erhielt ich durch Vermittlung von Herrn Geheimrat Haendel im Juni 1922 eine der von Oehler auf der 9. Tagung der „Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie“ in Würzburg demonstrierten D. m.-Kulturen. Von ihr ausgehend züchtete ich D. m. unter Beigabe verschiedener Nahrungsbakterien auf Amöbenagar weiter und gewann so „gemischte Reinkulturen“ [Mouton (4)] von D. m., mit denen ich, in der gleichen Weise wie früher mit anderen Kulturamöben [v. Schuckmann (11, 12, 13)], Kaninchen immunisieren konnte. Die Ergebnisse dieser zurzeit noch nicht ganz abgeschlossenen serologischen Untersuchungen sollen später veröffentlicht werden. Im Laufe dieser Untersuchungen konnte ich jedoch auch einige Beobachtungen über die Biologie von D. m. machen, die ich im folgenden kurz schildern will.

Wie bei allen Mycetozoen, kann man auch bei D. m. ein Vegetations- und ein Fruktifikationsstadium unterscheiden. Während des ersteren hat D. m. das typische Aussehen und die Ernährungs- und Fortbewegungsart der Amöben; es vermehrt sich unter günstigen Lebensbedingungen meist stark durch Zweiteilung. In gut wachsenden Agarkulturen liegen die D. m.-Amöben während des vegetativen Stadiums in großen Mengen, aber unregelmäßig verteilt dicht beieinander, ohne jedoch in engere Beziehungen zueinander zu treten. Erst wenn die Lebensbedingungen sich ungünstiger gestalten, wobei wohl der durch Aufzehren der Nahrungsbakterien verursachte Nahrungsmangel eine gewisse

1) Im Text der Arbeit als D. m. bezeichnet.

Generated on 2019-09-15 11:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Rolle spielen dürfte, tritt eine Aenderung in dem Verhalten der Amöben zueinander und damit der Beginn des Fruktifikationsstadiums ein: Die vorher unregelmäßig verteilten Amöben ordnen sich, nachdem sie alle in ihrem Protoplasma vorhandenen Fremdkörper (Bakterien, Detritus etc.) ausgestoßen und eine langgestreckte Form angenommen haben, in scharfbegrenzten, wurzelartig verzweigten „Zügen" an, von denen jeweils mehrere sich in einem „Zentrum" vereinigen. Innerhalb dieser Züge liegen die Amöben dicht aneinander gedrängt, ohne jedoch miteinander zu verschmelzen; man bezeichnet deshalb diese Gebilde, im Gegensatz zu den durch Verschmelzung der Amöben entstehenden echten Plasmodien der typischen Mycetozoen, als „Pseudoplasmodien" [Zopf (17)]. Das Pseudoplasmodium von D. m. hat, ebenfalls im Gegensatz zu den echten Plasmodien, „keine Vorwärtsbewegung des Ganzen vermittelst Pseudopodien und auch keine rhythmische Zirkulation seines Protoplasmas, und es findet wahrscheinlich in diesem Stadium keine Ernährung statt; es scheint lediglich ein notwendiger Vorläufer der Sporenbildung" [Potts (10)]. Durch Zusammenströmen der Amöben bilden sich in den Zentren der Pseudoplasmodien mehr oder weniger große Ansammlungen von Amöben, und aus ihnen erhebt sich im weiteren Verlaufe der Pseudosporangienbildung durch fortdauerndes Zusammenströmen der in den Pseudoplasmodien vereinigten Amöben je ein Zapfen, der allmählich zu einem aus umgewandelten Amöben bestehenden, mit einer festen Hülle versehenen Stiel wird. Die an der Stielbildung nicht beteiligten Amöben sammeln sich schließlich am distalen Ende des Stieles zu einem kugeligen Köpfchen an und wandeln sich in Sporen um. Der so entstandene Fruchtkörper von D. m. wird, weil er sich von echten Sporangien in mancher Hinsicht, z. B. durch das Fehlen einer besonderen Hülle, unterscheidet, als Pseudosporangium bezeichnet. Die Dauer eines Entwicklungszyklus von D. m. beträgt durchschnittlich 2—5 Tage [Nadson (5), Potts (10), Oehler (7)].

Nach Angaben von Potts (10) und Oehler (7) soll die Bildung von Pseudoplasmodien bei D. m. durch Nahrungsmangel ausgelöst werden. Potts konnte in seinen D. m.-Kulturen die Bildung von Pseudoplasmodien $3\,^1/_2$ Monate lang dadurch verhindern, daß er die Amöben jeden 2. oder 3. Tag auf neue, mit Bakterien bewachsene Platten überimpfte, so daß den Amöben dauernd Nahrung in reichem Maße zur Verfügung stand; ließ er jedoch die Kulturen 4—5 Tage alt werden, so trat regelmäßig Pseudosporangienbildung ein.

Bei meinen Untersuchungen benutzte ich als Nährboden für D. m. in der Regel sogenannten Amöbenagar nach der von v. Wasielewski und Kühn (16) gegebenen Vorschrift; als Nahrungsbakterien dienten mir Bac. coli und ein aus der mir überlassenen Oehlerschen Originalkultur stammendes gramnegatives Stäbchen, das im folgenden als „Bac. Oehler" bezeichnet werden soll, sowie ein aus Pferdekot rein gezüchtetes, ebenfalls gramnegatives Stäbchen. Die Züchtung von D. m. erfolgte anfangs ausschließlich nach dem von Mouton (4) für die Züchtung von Amöben angegebenen Verfahren: auf die Mitte der in Form von 8 radiären Strichen mit Nahrungsbakterien beimpften Agarplatten wurde, nachdem sie 24 Std. bei 37° C bebrütet worden waren, etwas D. m.-Material (Amöben oder Sporen) in einen Tropfen Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung übertragen. Bei Zimmertemperatur vermehrten sich die Amöben bald sehr reichlich und wuchsen längs der Bakterienradien, die sie dabei vollständig aufzehrten, bis zum Platten-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rand, den sie in der Regel nach 4—5 Tagen erreichten; die zwischen den Bakterienradien gelegenen Teile der Agarplatte blieben stets frei von Amöben. Auch die Pseudosporangienbildung erfolgte ausschließlich innerhalb der Radien, und die Amöbenzüge verliefen dabei stets in der Längsrichtung der Radien. Auf Platten, auf denen das D. m.-Wachstum den Plattenrand erreicht hatte, waren im ganzen Verlaufe der Radien stets zahlreiche Pseudosporangien vorhanden. Wurden die Platten nicht mit radiären Bakterienstrichen beimpft, sondern mit einer Aufschwemmung der Nahrungsbakterien in sterilem Leitungswasser übergossen, so daß sie nach 24-stünd. Bebrütung ganz mit einer Bakterienschicht bedeckt waren, so breiteten sich die D. m.-Amöben von der im Zentrum der Platte gelegenen Impfstelle in einer kreisrunden Schicht über die Agarplatte aus und erreichten bei Zimmertemperatur ebenfalls nach 4—5-täg. Wachstum den Plattenrand.

Eine mit einer einheitlichen Bakterienschicht vorbeimpfte Platte hat etwa am 3. Tage nach Beimpfung mit D. m. in der Regel folgendes Aussehen (vgl. Fig. 1): Im Zentrum der Platte, innerhalb des durch Verreiben des D. m.-Materials entstandenen Impffleckens, und in dessen näherer Umgebung finden sich zahlreiche fertig ausgebildete Pseudosporangien. Nach außen hin folgt dann eine Zone, in der sich die Amöben zu den charakteristischen, wurzelartig verzweigten Zügen angeordnet haben, die sämtlich in der Richtung vom Plattenrand zur Plattenmitte verlaufen und nahe dem Rand der Pseudosporangienzone in je einer die Grundlage für die eigentliche Pseudosporangienbildung darstellenden Amöbenanhäufung enden. Die Pseudoplasmodien sind also gewissermaßen einseitig ausgebildet, denn die Amöbenzüge umgeben die „Zentren“ nicht strahlenförmig auf allen Seiten, sondern münden nur von der dem Plattenrand zugewendeten Seite in die „Zentren“ ein; das Vorkommen solcher einseitig ausgebildeten Pseuodoplasmodien bei D. m. wird auch schon von Olive (8) erwähnt. Im Laufe des weiteren Wachstums der Kultur verlängern sich die Amöbenzüge allmählich immer mehr dadurch, daß die in der äußersten Zone dichtgedrängt liegenden Amöben sich, vielleicht infolge des durch Aufzehren der Nahrungsbakterien eintretenden Nahrungsmangels, ebenfalls zu Zügen anordnen, die sich als immer weitere Verzweigungen an die bereits vorhandenen Züge anschließen. Ist schließlich in einer derartigen Kultur das D. m.-Wachstum bis zum Plattenrand vorgedrungen, und haben die Amöben die Nahrungsbakterien fast völlig vertilgt, so erstrecken sich die Amöbenzüge häufig vom Plattenrand bis zu dem in der Mitte der Platte gelegenen Impffleck.

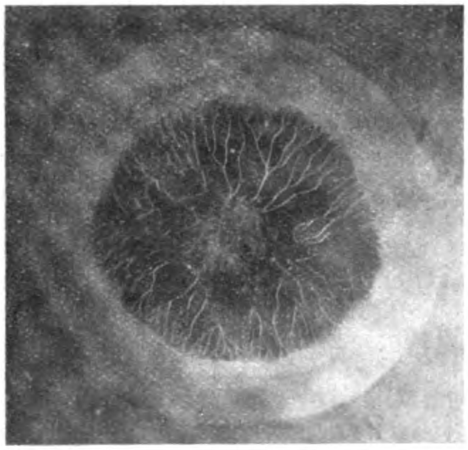


Fig. 1. 3 Tage alte D. m.-Kultur. In der Mitte der Impffleck mit fertig ausgebildeten Pseudosporangien. Nach außen folgt dann die Zone der Pseudoplasmodien und auf diese der aus einzeln liegenden Amöben bestehende Ring.

Die zu Zügen angeordneten Amöben werden mit der Zeit zum weitaus größten Teil zur Bildung der Pseudosporangien verbraucht, auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Agarplatte sind aber trotzdem noch längere Zeit gewissermaßen die „Spuren“ der Züge erkennbar. In einer etwa 8—10 Tage alten Plattenkultur, die „freie“, d. h. nicht zur Pseudosporangienbildung verbrauchte Amöben nur noch in verhältnismäßig geringer Anzahl enthält, finden sich die meisten und in der Regel auch größten Pseudosporangien nahe der Plattenmitte, im Impffleck und in dessen näherer Umgebung. Nach Beimpfung der Platten mit reichlichem D. m.-Material treten außerdem während der ersten Tage nach der Beimpfung im Impffleck zahlreiche auffallend kleine Pseudosporangien auf.

Die die Sporen enthaltenden Köpfchen der Pseudosporangien sind in der Regel von zähflüssiger Konsistenz, so daß man sie mit Hilfe eines feinen Glasfadens ohne Schwierigkeit von dem Stiel abheben und wieder auf den Stiel aufsetzen kann. Ich konnte jedoch feststellen, daß ein solches zunächst zähflüssiges Köpfchen, wenn es unter der binokularen Lupe eine Zeit lang bei geöffneter Kulturschale beobachtet wurde, häufig binnen wenigen Minuten eine festere Konsistenz annahm, so daß man mit einem Glasfaden nicht mehr hindurchstechen und es abheben konnte. Ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Konsistenzgraden der Pseudosporangienköpfchen besteht darin, daß die Oberfläche der zähflüssigen Köpfchen stark spiegelt, während die Köpfchen von festerer Konsistenz eine „stumpfe“ Oberfläche haben. Betrachtet man ein „fest“ gewordenes Pseudosporangienköpfchen einige Zeit, nachdem man die Kulturschale wieder mit einem Deckel bedeckt hat, von neuem, so wird man in der Regel sehen, daß daß Köpfchen seine ursprüngliche zähflüssige Konsistenz wieder angenommen hat. Dieser Wechsel zwischen zähflüssiger und „fester“ Konsistenz bei einem und demselben Köpfchen läßt sich durch Oeffnen bzw. Schließen der Kulturplatte meist beliebig oft wiederholen.

Wie bereits oben (S. 303) erwähnt, sind die Untersucher von D. m. meist der Ansicht, daß der erste Anstoß zur Pseudosporangienbildung bei D. m. durch den Eintritt von Nahrungsmangel gegeben wird. Auch meine Beobachtungen über die Bildung der Pseudoplasmodien dürften wohl dafür sprechen, daß dem Nahrungsmangel für die Auslösung der Pseudosporangienbildung eine gewisse Bedeutung zukommt, denn Pseudoplasmodien als Vorläufer der Pseudosporangienbildung traten in meinen Kulturen stets nur an solchen Stellen der Agarplatten auf, an denen die Nahrungsbakterien von den Amöben ganz oder doch zum größeren Teil aufgezehrt waren.

Daß jedoch Nahrungsmangel allein nicht immer genügt, um die Pseudosporangienbildung auszulösen, geht aus der von mir gemachten Beobachtung hervor, daß trotz eintretenden Nahrungsmangels unter Umständen die Bildung von Pseudosporangien auch dauernd unterbleiben kann: Ich züchtete, wie schon erwähnt, D. m. vom Juni 1922 an sowohl mit „Bac. Oehler“ als auch mit Bac. coli, und erzielte, indem ich die Kulturen durchschnittlich alle 6—8 Tage weiterimpfte, stets reichliche Pseudosporangienbildung. Ende Juli 1922 hörte jedoch die Bildung von Pseudosporangien bei der mit „Bac. Oehler“ fortgezüchteten Kulturreihe ziemlich plötzlich auf, ohne daß in der Art und Häufigkeit der Weiterimpfung der Kulturen irgendwelche Aenderung eingetreten war. Es kam in diesen Kulturen zwar regelmäßig zur Bildung von Pseudoplasmodien, die Ausbildung von Pseudosporangien unterblieb jedoch seitdem vollständig und dauernd. Trotzdem aber hat sich dieser mit „Bac. Oehler“ gefütterte D. m.-Stamm

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

bis heute in gewohnter Weise fortzüchten lassen, ohne daß jemals wieder, auch in mehrere Wochen alten Kulturen, Pseudosporangien gebildet worden wären.

Ein ganz ähnliches Schicksal hatte im November 1922 die mit Bac. coli gezüchtete Kulturreihe: Auch hier hörte die Bildung von Pseudosporangien auf, während das Wachstum der Kulturen normal blieb und Pseudoplasmodien an den von Nahrungsbakterien entblößten Stellen der Agarplatten regelmäßig gebildet wurden, und auch diese Kulturreihe ließ sich bei dauerndem, vollständigem Ausbleiben der Pseudosporangienbildung bis jetzt fortzüchten.

Ueber die Ursache für dieses Aufhören der Pseudosporangienbildung habe ich bisher Genaueres noch nicht ermitteln können. Verschiedene Versuche, die beiden D. m.-Kulturreihen wieder zur Bildung von Pseudosporangien zu veranlassen, schlugen zunächst fehl: Ausgehend von dem Gedanken, daß bei manchen Protozoenarten die Encystierung erst nach Ablauf einer bestimmten größeren Anzahl von Generationen eintritt, wurde versucht, die Zahl der auf meinen Kulturplatten aufeinanderfolgenden D. m.-Generationen dadurch zu erhöhen, daß die Platten, noch ehe die Nahrungsbakterien von den Amöben vollständig vertilgt waren, mehrmals von neuem mit einer Bakterienaufschwemmung beschickt wurden; diese „Nachfütterungen" der Amöben blieben jedoch ohne den erhofften Erfolg, d. h. es erfolgte nach wie vor keine Pseudosporangienbildung. Auch durch einen Wechsel in der Nahrung — den Kulturen wurde an Stelle von „Bac. Oehler" und Bac. coli ein aus Pferdekot isoliertes Stäbchen als Nahrungsbakterium beigegeben — konnte eine Pseudosporangienbildung nicht erzielt werden. Ebensowenig Erfolg hatte der Zusatz eines aus Pferdekot hergestellten wässerigen Extraktes zu dem Amöbenagar: Die D. m.-Amöben wuchsen auf diesem Pferdekotagar, der nach der von Nöller (6) gegebenen Vorschrift hergestellt war, in der gleichen Weise wie auf Amöbenagar ohne Pferdekotextrakt, und bildeten auch Pseudoplasmodien, aber keine Pseudosporangien.

Schließlich gelang es jedoch auf folgende Weise, den nicht mehr Pseudosporangien bildenden D. m.-Stamm wieder zur Pseudosporangienbildung zu veranlassen: Eine Petri-Schale wurde mit frisch abgelegtem, nicht sterilisiertem Pferdekot beschickt, und dieser dann mit einer Aufschwemmung des nicht Pseudosporangien bildenden D. m.-Stammes in sterilem Leitungswasser übergossen. Am 6. Tage nach der Beimpfung fanden sich auf dem Pferdekot neben zahlreichen Schimmelpilzen Gebilde, die ihrem Aussehen nach für Pseudosporangien von D. m. gehalten wurden. Die Ueberimpfung auf Amöbenagar ergab, daß es sich in der Tat um D. m. handelte, denn auf den Agarplatten fanden sich 5 Tage nach ihrer Beimpfung außer Amöben zahlreiche typische Pseudosporangien von D. m. Der so nach einer Passage über Pferdekot wieder Pseudosporangien bildende Amöbenstamm (Dict. Pfk. I) wurde sodann auf Amöbenagar unter Beigabe von Bac. coli und einem aus Pferdekot gezüchteten Stäbchen weiter gezüchtet, und bildete etwa 4 Monate lang regelmäßig zahlreiche normale Pseudosporangien.

Da bei dem soeben geschilderten Versuch nicht sterilisierter Pferdekot zur Verwendung gelangte, so bestand die Möglichkeit, daß dieser Pferdekot schon vor seiner Beimpfung mit D. m. Amöben oder Sporen von D. m. enthielt, daß also der von mir unter der Bezeichnung Dict. Pfk. I fortgezüchtete Stamm nicht die Fortsetzung des Oehlerschen Originalstammes, sondern ein neu aus Pferdekot gezüchteter D. m.-Stamm war.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei einem zweiten gleichartigen Versuch wurde deshalb der zur Verwendung kommende Pferdekot vor seiner Beimpfung mit dem nicht mehr Pseudosporangien bildenden Oehlerschen Original-D. m.-Stamm in strömendem Dampf sterilisiert, wodurch nicht nur, wie ein Versuch ergab, alle im Pferdekot etwa vorhandenen D. m.-Stadien abgetötet wurden, sondern auch das Wachstum von Schimmelpilzen unterbunden wurde. Um dem D. m. die nötigen Nahrungsbakterien zu bieten, wurde der sterilisierte Pferdekot außer mit einer D. m.-Aufschwemmung auch mit einer Aufschwemmung des aus Pferdekot gezüchteten Stäbchens übergossen. 7 Tage nach Beimpfung des Pferdekots mit D. m.-Amöben waren Pseudosporangien auf ihm noch nicht zu entdecken. Als ich jedoch die Versuchsschalen nach Verlauf von weiteren $3^1/_2$ Wochen wieder besichtigte, fanden sich in einer mit D. m. beimpften Schale zahlreiche typische D. m.-Pseudosporangien auf dem Pferdekot, während die nur mit sterilem Wasser übergossenen Kontrollschalen keine D. m.-Amöben oder -Pseudosporangien enthielten. Durch Uebertragung einiger der auf Pferdekot gewachsenen Pseudosporangien auf Agarplatten, die mit Bakterienradien vorbeimpft waren, wurde wiederum ein in jeder Beziehung normaler D. m.-Stamm (Dict. Pfk. II) erhalten, der dauernd reichlich Pseudosporangien bildete. Dieser auf sterilisiertem Pferdekot gewachsene Stamm kann nur als die Fortsetzung des vor der Uebertragung auf Pferdekot nicht mehr Pseudosporangien bildenden Oehlerschen Originalstammes angesehen werden.

Es ist also gelungen, bei einem seit längerer Zeit auf Amöbenagar fortgezüchteten D. m.-Stamm, der aus bisher unbekannter Ursache vollständig aufgehört hatte, Pseudosporangien zu bilden, dadurch, daß er auf sterilisierten Pferdekot übertragen wurde, die Bildung von Pseudosporangien erneut wieder hervorzurufen, und zwar so, daß der vom Pferdekot auf Amöbenagar zurückübertragene und auf diesem fortgezüchtete Stamm (Dict. Pfk. II) auch weiterhin regelmäßig Pseudosporangien in großer Zahl und normaler Größe bildete und sie auch jetzt noch — 2 Mon. nach seiner Rückübertragung vom Pferdekot auf Amöbenagar — bildet.

Der oben erwähnte D. m.-Stamm (Dict. Pfk. I) dagegen, dessen Uebertragung vom Pferdekot auf Amöbenagar jetzt (Ende September 1923) bereits 5 Mon. zurückliegt, und der nach dieser Uebertragung zunächst etwa 4 Mon. lang ebenfalls in durchaus normaler Weise Pseudosporangien bildete, läßt jetzt deutliche Anzeichen für ein abermaliges Nachlassen bzw. völliges Erlöschen der Pseudosporangienbildung erkennen: der Stamm wird seit längerer Zeit außer auf Platten, auf welche die Nahrungsbakterien (Bac. coli) in Form von Radien verimpft sind, regelmäßig auch auf Platten gezüchtet, deren ganze Fläche mit einer Schicht von Bakterien überwachsen ist. Seit etwa einem Monat ist nun auf den mit Bakterienradien vorbeimpften Platten ein deutlicher Rückgang zwar nicht der Zahl, wohl aber der Größe der Pseudosporangien eingetreten. Auf den von einer zusammenhängenden Bakterienschicht bedeckten Platten begann die Größe und Zahl der vom D. m.-Stamm Dict. Pfk. I gebildeten Pseudosporangien ebenfalls vor etwa 4—5 Wochen stark abzunehmen. Seit einiger Zeit hat auf diesen Platten nicht nur die Pseudosporangien-, sondern auch die Pseudoplasmodienbildung fast vollständig aufgehört. Die Platten sind, wenn das D. m.-Wachstum den Plattenrand erreicht hat, von einer

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

dichten Schicht von D. m.-Amöben bedeckt, die in älteren Kulturen noch hier und da vereinzelte, kleine Pseudoplasmodien bilden, meist jedoch allmählich an Zahl abnehmen und schließlich völlig verschwinden, ohne Sporen gebildet oder sich auch nur zu Zügen angeordnet zu haben. Mit diesem schon zum 2. Male nicht mehr regelmäßig normale Pseudosporangien bildenden D. m.-Stamm (Dict. Pfk. I) wurde nun in der gleichen Weise wie oben (S. 307) beschrieben, sterilisierter Pferdekot unter Beigabe von Nahrungsbakterien beimpft. Bis zum 9. Tage nach der Beimpfung waren auf dem Pferdekot nur D. m.-Amöben nachweisbar, am 10. Tage aber fanden sich in mehreren Schalen auf dem Pferdekot Pseudosporangien von D. m. Von diesen wurden einige auf eine mit Coli-Bakterien vorbeimpfte Agarplatte übertragen (Dict. Pfk. III) und 4 Tage später war D. m. auf dieser Platte von der Mitte aus halbwegs bis zum Plattenrand vorgedrungen und hatte bereits zahlreiche Pseudosporangien von normaler Größe gebildet.

Wie das Ergebnis dieses Versuches zeigt, kann also auch ein D. m.-Stamm, welcher bereits einmal aufgehört hatte, Pseudosporangien zu bilden und durch Passage über Pferdekot wieder zur Bildung von Pseudosporangien gebracht worden war, nach einiger Zeit (4 Mon.) jedoch die Bildung von Pseudosporangien, ja sogar von Pseudoplasmodien abermals fast vollständig eingestellt hatte, durch erneute Passage über Pferdekot die Fähigkeit zur Bildung normaler Pseudosporangien wieder erlangen.

Ebensowenig wie ich die Ursache für das Aufhören der Pseudosporangienbildung von D. m. in meinen Agarplattenkulturen bisher habe feststellen können, konnte ich bis jetzt ausfindig machen, worauf es beruht, daß ein nicht mehr Pseudosporangien bildender D. m.-Stamm nach einer Passage über Pferdekot sofort auch auf Agar wieder Pseudosporangien bildet. Obwohl auch ich, ebenso wie frühere Untersucher von D. m. [Potts (10), Oehler (7)] bei meinen Versuchen mit D. m. den Eindruck gewonnen habe, daß Nahrungsmangel bei der Auslösung der Pseudosporangienbildung von D. m. eine gewisse Rolle spielt, so dürfte aus den oben dargestellten Ergebnissen meiner Versuche doch wohl hervorgehen, daß Nahrungsmangel allein nicht immer imstande ist, die Bildung von Pseudosporangien auszulösen, sondern daß auch noch andere, bisher nicht bekannte Faktoren für die Auslösung der Pseudosporangienbildung in Frage kommen. Welcher Art diese Faktoren sind, werden weitere Untersuchungen ergeben müssen [1]).

Literatur.

1) Brefeld, O., Dictyostelium mucoroides, ein neuer Organismus aus der Verwandtschaft der Myxomyzeten. (Abhdl. Senckenb. Naturf. Ges. Frankfurt a. M. Bd. 7. 1869. S. 85.). — 2) Ders., Polysphondylium violaceum und Dictyostelium mucoroides nebst Bemerkungen zur Systematik der Schleimpilze. (Unters. a. d. Gesamtgeb. d. Mykol. H. 6. 1884.) — 3) Grimm, M., Ueber den Bau und die Entwicklungsgeschichte von Dictyostelium mucoroides Bref. (Script. Bot. Hort.

1) Anm. bei der Korrektur. Wie meine seither angestellten Versuche ergeben haben, scheint die Beschaffenheit der Oberfläche des Nährsubstrats, auf welchem D. m. gezüchtet wird, einen gewissen Einfluß auf die Bildung der Pseudosporangien auszuüben.

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Univ. Imp. Petersburg. Vol. 4. 1895. p. 279.) — 4) Mouton, Recherches sur la digestion chez les amibes et sur la diastase intracellulaire. (Ann. Inst. Past. T. 16. 1902.) — 5) Nadson, G. A., Des cultures du Dictyostelium mucoroides Bref. et des cultures pures des Amibes en général. (Script. Bot. Hort. Univ. Imp. Petersburg. Vol. 15. 1899. p. 153.) — 6) Nöller, W., Die wichtigsten parasitischen Protozoen des Menschen und der Tiere. Teil I. Berlin (Rich. Schoetz) 1922. — 7) Oehler, R., Dictyostelium mucoroides Bref. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. S. 155.) — 8) Olive, E. W., Monograph of the Acrasieae. (Proc. Boston. Soc. Nat. Hist. Vol. 30, 1902. p. 451.) — 9) Pinoy, E., Rôle de Bactéries dans le développement de certains Myxomycétes. (Ann. Inst. Past. T. 21. 1907. p. 622 u. 686.) — 10) Potts, G., Zur Physiologie des Dictyostelium mucoroides. (Flora. Bd. 91. 1902. S. 281.) — 11) Schuckmann, W. v., Serologische Untersuchungen an Kulturamöben. (Berl. klin. Wochenschr. Jhrg. 57. 1920. S. 545.) — 12) Ders., Untersuchungen über das serologische Verhalten verschiedener Amöbenstämme. (Arb a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 52. 1920. S. 133.) — 13) Ders., Ueber den Einfluß spezifischer Sera auf die Flagellatenstadien von Kulturamöben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. S. 304.) — 14) Skupienski, F. X., Sur la sexualité chez une espèce de Myxomycète Acrasiée, Dictyostelium mucoroides. (Compt. rend. Acad. Sc. Paris. T. 167. 1918. p. 960.) — 15) van Tieghem, M. Ph., Sur quelques Myxomycètes à plasmode aggrégé. (Bull. Soc. Bot. France. T. 27. 1880. p. 317.) — 16) Wasielewski, Th. v., u. Kühn, A., Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkernes. (Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. etc. Bd. 38. 1914.) — 17) Zopf, W., Die Pilztiere oder Schleimpilze. Breslau 1885.

Nachdruck verboten.

Ueber die Häufigkeit der Lamblieninfektion im Rheinlande.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Bonn (stellvertretender Direktor: Privatdozent Dr. F. W. Bach).]

Von **M. Simon**, Medizinalpraktikant.

Von Bach und Kiefer (1) ist in einer vor kurzem erschienenen Arbeit über die Verbreitung parasitischer Darmprotozoenarten des Menschen innerhalb Deutschlands darauf hingewiesen worden, daß im Gegensatz zum Auslande für Deutschland erst sehr wenige Untersuchungen aus den letzten Jahren vorliegen, die sich mit der Häufigkeit des Vorkommens von Darmprotozoen beschäftigen. In Fortsetzung der 1922 von Bach und Kiefer begonnenen Untersuchungen habe ich im Sommer 1923 weiterhin in Bonn Erhebungen in dieser Richtung angestellt, und zwar, mich auf ein Teilgebiet beschränkend, Untersuchungen über die Häufigkeit der Infektion mit Lamblia intestinalis ausgeführt. Soweit es mir möglich war, habe ich gleichzeitig versucht, Unterlagen über die klinische Bedeutung der Lamblieninfektion zu sammeln.

Das Material zu meinen Untersuchungen erhielt ich aus den hiesigen Universitätskliniken, von einigen Kinderärzten der Stadt, dem städtischen Tageserholungsheime sowie von Personen meines Bekanntenkreises. Diese Stuhlproben stammten mit wenigen Ausnahmen von Personen aus dem Rheinlande, im allgemeinen von Bonner Einwohnern. Meistens handelte es sich um darmgesunde Personen, nur bei wenigen lagen zur Zeit der Untersuchung selbst Darmstörungen vor.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Stuhlproben habe ich im allgemeinen nur einmal untersuchen können, stets aber habe ich mehrere Präparate desselben Stuhles durchgemustert. Es ist daher möglich, daß einige Lamblieninfektionen unerkannt geblieben sind, da Unterbrechungen in der Zystenausscheidung vorkommen können. Meine Untersuchungsergebnisse können daher vorsichtigerweise nur als Mindestzahlen gewertet werden, wenn auch voraussichtlich der Fehler nicht groß sein wird.

Im ganzen habe ich 137 Personen untersucht, von diesen waren 87 männlichen, 50 weiblichen Geschlechts, 106 Personen waren jünger als 15 Jahre, 31 Personen älter als 15 Jahre. Jugendliche, d. h. Personen unter 15 Jahren, sind somit in meinen Untersuchungen in 77,4 Proz. an der Gesamtzahl beteiligt. Eine allgemeine Uebersicht über die von mir festgestellte Häufigkeit der Lamblieninfektion gibt Tab. I.

Tabelle I.

Geschlecht	Zahl der untersuchten Personen	mit Lamblien infiziert
männlich	86	18 = 20,9 Proz.
weiblich	51	14 = 27,5 „
	137	32 = 23,4 Proz.

Insgesamt fanden sich also in 137 Stühlen 32mal Lamblien = 23,4 Proz., das weibliche Geschlecht war stärker als das männliche an der Infektion beteiligt.

Führe ich eine Trennung der untersuchten Personen nach dem Alter durch, indem ich eine Grenze zwischen Jugendlichen und Erwachsenen mit 15 Jahren ziehe, so ergibt sich:

Tabelle II.

Zahl der untersuchten Personen			mit Lamblien infiziert	
31 Erwachsene (über 15 Jahre)	Männer	26	3 = 11,5 Proz.	= 9,7 Proz.
	Frauen	5	— —	
106 Jugendliche (unter 15 Jahre)	Knaben	60	15 = 25,0 „	= 27,4 „
	Mädchen	46	14 = 30,4 „	

Aus dieser Zusammenstellung geht deutlich hervor, daß Jugendliche bei weitem häufiger als Erwachsene infiziert sind und unter den Jugendlichen wiederum Mädchen stärker als Knaben. Diese Verhältnisse werden in den folgenden Tabellen noch klarer zutage treten.

Den frühesten Fall einer Infektion konnte ich bei einem 9 Mon. alten Knaben ermitteln (unter 10 Kindern im Alter von 0—1 Jahre), bei 8 Kindern im Alter von 1—2 Jahren fand ich 2 Fälle (Mädchen), bei 4 Kindern im Alter von 2—3 Jahren 1 Fall (Knabe). Soviel ich sehe, ist über eine Infektion im 1. Lebensjahre noch nicht berichtet worden, Matthews und Smith (2), die 548 Kinder bis zu 12 Jahren untersuchten, fanden die frühesten Infektionen im Alter von 1—2 Jahren.

Diesen Zusammenstellungen füge ich eine Statistik von Bach und Kiefer aus dem Jahre 1922 und zwar ebenfalls aus Bonn an, in der sich Unterlagen über die Häufigkeit der Infektion mit *Lamblia intestinalis* finden. Wenn ich diese Untersuchungen, die hauptsächlich Erwachsene betreffen, mit meinen Untersuchungen, die sich vorwiegend auf Jugendliche beziehen, in einer Tabelle vereinige, da die untersuchten Personen aus derselben Gegend, also aus dem Rheinlande stammen, so können beide Untersuchungsreihen ungefähr ein Bild von der Häufigkeit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Vorkommens von Lamblien innerhalb der hiesigen Bevölkerung geben; denn meine Untersuchungen, allein genommen, würden ein nicht ganz richtiges Bild des Lamblienvorkommens geben können, da Jugendliche häufiger Lamblien beherbergen als Erwachsene.

Ich muß zum Zwecke der Vereinigung beider Statistiken allerdings eine Korrektur der Zahlen anbringen, weil in den Zusammenstellungen von Bach und Kiefer wie von mir 4 gleiche Personen (2 Männer und 2 Knaben mit positiver Infektion) mitgezählt sind. Bach und Kiefer untersuchten 201 Personen und fanden Lamblien in 6,8 Proz. (11mal) bei 161 Personen männlichen und in 7,5 Proz. (3mal) bei 40 Personen weiblichen Geschlechts. Ziehe ich die erwähnten 4 Fälle von der Gesamtzahl der Fälle von Bach und Kiefer ab, so bleiben 197 Personen (157 männliche, 40 weibliche) mit 10 Lamblienfällen.

Die vereinigte Uebersicht ergibt:

Tabelle III.

Geschlecht	Zahl der untersuchten Personen	mit Lamblien infiziert
männlich	157 (B. und K.)	7 = 4,6 Proz.
	86 (Simon)	18 = 20,9 „
	243	25 = 10,2 Proz.
weiblich	40 (B. und K.)	3 = 7,5 Proz.
	51 (Simon)	14 = 27,8 „
	91	17 = 18,7 Proz.
gesamt	334	42 = 12,6 Proz.

Eine Trennung nach dem Alter kann ich auch bei diesem Materiale in der früheren Weise durchführen. Nach den mir zur Verfügung gestellten Unterlagen sind in den von Bach und Kiefer untersuchten 201 Personen 14 Jugendliche (bis 15 Jahre) einbegriffen, 8 Knaben und 6 Mädchen mit je 2 positiven Lamblienbefunden, 187 Personen sind demnach Erwachsene (153 Männer und 34 Frauen), bei denen 10mal Lamblien gefunden wurden (9mal bei Männern und 1mal bei Frauen). Unter den von mir untersuchten Frauen finden sich 106 Jugendliche (60 Knaben und 46 Mädchen) und 31 Erwachsene (26 Männer und 5 Frauen). Vereinige ich beide Untersuchungsreihen unter Berücksichtigung der erwähnten Korrekturen (4 positive Infektionen bei 2 Männern

Tabelle IV.

Geschlecht		Zahl der untersuchten Personen	mit Lamblien infiziert	
118 Jugendliche	Knaben	6 (B. und K.)	—	= 26,3 Proz.
		60 (Simon)	15	
		66	15 = 22,7 Proz.	
	Mädchen	6 (B. und K.)	2	
		46 (Simon)	14	
		52	16 = 30,8 Proz.	
216 Erwachsene	Männer	151 (B. und K.)	7	= 5,1 Proz.
		26 (Simon)	3	
		177	10 = 5,6 Proz.	
	Frauen	34 (B. und K.)	1	
		5 (Simon)	—	
		39	1 = 2,6 Proz.	

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

und 2 Knaben, die in beiden Reihen erscheinen), so ergibt sich, daß von 334 Personen der rheinischen Bevölkerung 12,6 Proz. mit Lamblien infiziert gefunden wurden, und zwar (siehe Tab. IV, S. 311).

Diese Zusammenstellung veranschaulicht in noch deutlicherer und einwandfreierer Weise als früher die Tatsache, daß Jugendliche bei weitem stärker an der Infektion beteiligt sind als Erwachsene.

Aus anderen Teilen Deutschlands liegen aus den letzten Jahren erst wenige Untersuchungen vor, die ein Bild von der Häufigkeit des Lamblienvorkommens bei uns geben können. Fischer (3) fand 1919 bei der Untersuchung von 120 Personen der medizinischen Klinik in Göttingen 2,5 Proz., Hage (4) 1922 bei 400 verschiedenen Personen aus Thüringen 3,5 Proz., Westphal und Georgi (6) 1923 bei 100 Personen der medizinischen Klinik in Frankfurt a. M. 2 Proz. Lamblieninfektionen. Die Infektion mit Lamblien hätte nach diesen Angaben innerhalb Deutschlands im allgemeinen keine große Verbreitung. Nur Untersuchungen von Hage (5) bei 96 Personen in Cuxhaven, Wilhelmshaven und Kiel (Marineangehörige) weisen höhere Zahlen auf: 10,4 Proz. Diese Untersuchungen an einem besonders ausgewählten Menschenmaterial (Personen mit ehemaliger Amöbenruhr oder solche, die längere Zeit in Gegenden mit endemischer Amöbenruhr gelebt hatten) können aber mit den meinen nicht direkt in Vergleich gesetzt werden. Meine Untersuchungen in Verbindung mit denen von Bach und Kiefer mit einem Prozentsatz von 12,6 Proz. Lamblieninfektionen zeigen demnach eine in den letzten Jahren bisher für Deutschland noch nicht angegebene Häufigkeit des Lamblienvorkommens.

Von besonderem Interesse ist, daß gerade aus Bonn von Hetzer (7) Angaben aus der Vorkriegszeit über Lamblieninfektionen vorliegen. Hetzer fand 1914 bei 427 verschiedenen Personen in Bonn nur in 2,58 Proz. Lamblien. Der Unterschied zwischen diesen Untersuchungen und denen aus den letzten Jahren ist recht auffallend. Ob die erhöhte Infektion mit der Kriegs- oder Nachkriegszeit, mit der gesunkenen Hygiene oder den Ernährungsverhältnissen in Beziehung steht, ist ohne weiteres nicht zu sagen.

In früheren Jahren sind dagegen bereits höhere Infektionszahlen gefunden worden. So geben aus dem Jahre 1893 Moritz und Hölzl (8) an, in Deutschland 54,5 Proz. ihrer Fälle mit Lamblien infiziert gefunden zu haben. Es handelte sich hierbei um Untersuchungen, die an Personen vorgenommen wurden, die an Tuberkulose verstorben waren. Daß bei Lamblieninfektionen häufig Tuberkulose zu verzeichnen ist, scheint nicht ganz zufällig zu sein. Ich finde diese Angaben durch meine Untersuchungen bestätigt; denn $^2/_3$ der von mir untersuchten infizierten Personen waren tuberkulös belastet, soweit ich das durch Nachfrage feststellen konnte. Eine wirkliche Darmtuberkulose lag aber in keinem Falle vor. Zum Beispiel waren von 70 jugendlichen, wegen Skrofulose oder sonstiger Tuberkulose im städtischen Tageserholungsheim befindlichen Personen allein 20 = 28,6 Proz. mit Lamblien infiziert, während von meinen übrigen 67 Untersuchungen nur 12 Infektionsfälle = 18 Proz. vorlagen.

Von ausländischen Autoren sind aus Europa, abgesehen von meinen Zahlen, in den letzten Jahren vielfach weit höhere Werte als die vorhergenannten Zahlen deutscher Untersucher angegeben worden. Zum Teil sind aber diese Befunde aus europäischen Gegenden durch besondere Umstände bedingt; denn es handelt sich vielfach um Kriegsteilnehmer aus südlichen Kriegsschauplätzen mit vorausgegangener Ruhr oder sonstigen Darmerkrankungen. Die Ansiedlung der Flagellaten ist

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

bei diesen Personen, die ja vielfach unter den unhygienischsten Bedingungen lebten, zweifellos begünstigt worden.

So fanden Kennedy und Rosewarne (9) 1916 von 136 Soldaten aus Gallipoli 9 Proz., Jepps (zit. nach 1) 1916 von 426 Soldaten 19 Proz., Fantham (10)[1]) 1916 von 1291 Soldaten ebendaher 16,73 Proz. infiziert, Bentham (zit. nach 1) beobachtete 1920 bei 200 Soldaten aus Malta 14,8 Proz., Matthews und Smith bei 4060 Soldaten aus Frankreich 16,4 Proz., Sangiorgi (zit. nach 1) 1918 bei 2000 Soldaten aus Albanien 2,4 Proz. Lamblieninfektionen. Weiterhin berichtet Dobell (zit. nach 1) 1916 über 19,5 Proz. Infektionen bei 200 Insassen des Walton Hospitales.

Für einen Vergleich mit meinen Zahlen erscheinen besonders die von Matthews und Smith (2) 1918 für Personen der englischen Zivilbevölkerung wertvoll. Die beiden Untersucher fanden bei 450 Personen, die England nicht verlassen hatten, 6 Proz., bei 1098 Rekruten 7 Proz., bei 207 Geisteskranken 3,4 Proz., bei 548 Kindern unter 12 Jahren dagegen 14,1 Proz. mit Lamblien infiziert. Kinder sind auch nach diesen Untersuchungen sehr viel stärker befallen als Erwachsene. Diese ja verschiedentlich schon früher festgestellte Tatsache erfährt auch durch außereuropäische Untersuchungen eine Bestätigung, Young (zit. nach 1) gibt z. B. an, 1922 bei 249 Schulkindern in Amazonas in 14 Proz., bei 251 Soldaten nur in 8 Proz. Lamblien angetroffen zu haben.

Den von mir festgestellten Lamblienfällen bin ich nun, soweit es mir möglich war, etwas näher nachgegangen, um zu erfahren, ob und in welcher Weise in der Vorgeschichte der betreffenden Personen etwas für die Infektion Wesentliches zu finden sei. Von den von mir beobachteten 32 Fällen konnte ich bei 30 Angaben erhalten, über die im folgenden der Raumersparnis halber eine gedrängte Uebersicht gegeben werden soll.

1) In 10 Fällen (= $^1/_3$) ergab die Vorgeschichte nichts, was als Aeußerung der Lamblieninfektion hätte angesprochen werden können, Störungen seitens des Darmkanales wurden nicht angegeben. 7 Personen (Jugendliche) befanden sich wegen Skrofulose im städtischen Tageserholungsheime, die übrigen 3 waren gesunde Erwachsene.

2) Bei den übrigen 20 Fällen ließen sich dagegen in der Vorgeschichte Darmstörungen feststellen, einen Fall von Lamblienruhr habe ich aber bei keinem der Infizierten gefunden.

a) Bei 9 Personen lagen die angegebenen Darmstörungen schon längere Zeit zurück, die kürzesten Fristen waren je 1mal 2, 3 und 6 Mon., sonst handelte es sich um Jahre. Bei 4 Personen waren Durchfälle längere Zeit beobachtet worden, sonst nur für kurze Zeit. Abgesehen von einem gesunden Erwachsenen waren 8 von diesen 9 Personen Jugendliche im Alter von 8—14 Jahren, die sich wegen Skrofulose im Tageserholungsheim befanden.

b) Bei den übrigen 11 Personen (Jugendlichen) waren Darmstörungen, zeitweilig auftretende Durchfälle, dagegen in der letzten Zeit öfter beobachtet worden. 4 dieser Kinder befanden sich ebenfalls wegen Skrofulose im Tageserholungsheim, bei einem 5. war die Pirquetreaktion positiv, von den übrigen 6 Kindern konnte ich in dieser Hinsicht keine näheren Angaben erhalten, die Mehrzahl war als schwächlich zu bezeichnen. Bei 1 Mädchen von $3^1/_2$ Jahren, das ich öfter zu beobachten Gelegenheit hatta, traten mehrmals stark blutig-schleimige Stühle auf. Zur Zeit dieser Anfälle verschwanden aber die früher vorhanden gewesenen Lamblien und erschienen erst später wieder nach Abklingen der ruhrartigen Erscheinungen. Dieser Fall war eigentlich der

1) Die Angabe von Rodenwaldt (11) im Handbuch der pathogenen Protozoen Lief. 8. S. 1117, daß Fantham bei 1291 Personen 471 mal (ca. 37 Proz.) Lamblien gefunden habe, bedarf einer Richtigstellung. Es handelte sich bei diesen Untersuchungen um mehrfache Stuhluntersuchungen; im ganzen waren von diesen 1291 Personen nur 216 (= 16,7 Proz.) mit Lamblien infiziert.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einzige mit schwereren Darmstörungen, eine Ursache der Enteritis konnte nicht gefunden werden. In auffällig stark stinkenden Stühlen, die aber frei von Blutbeimengungen waren, fanden sich ferner Lamblien bei einem 9 Mon. alten Knaben. Das Auftreten ruhrartiger Krankheitserscheinungen wurde mir sonst nicht angegeben.

Ein Urteil darüber zu fällen, ob die angegebenen Darmstörungen mit der Lamblieninfektion in direktem Zusammenhange standen, ist nicht möglich, im allgemeinen dürften die Lamblien wohl kaum für jene Erscheinungen verantwortlich zu machen sein und nur die Rolle von harmlosen Parasiten spielen. Darmstörungen vorübergehender Art sind ja bei Kindern nichts Ungewöhnliches. Zum Zwecke einer Gegenprobe habe ich daher bei einer Anzahl Kinder des Tageserholungsheimes, die nicht mit Lamblien infiziert waren, nach dem Vorkommen von Darmstörungen gefragt und gefunden, daß 16 von 37 Kindern ähnliche Angaben wie die Infizierten machten, d. h. zeitweilig Durchfälle gehabt hatten.

Zusammenfassung.

Stuhluntersuchungen von 137 Personen in Bonn ergaben in 23,4 Proz. eine Infektion mit Lamblia intestinalis. 77,4 Proz. der untersuchten Personen waren Jugendliche unter 15 Jahren, bei denen sich in 27,4 Proz. Lamblien fanden. Der früheste Fall einer Infektion fand sich bei einem 9 Mon. alten Kinde.

Unter Berücksichtigung von Untersuchungen, die von Bach und Kiefer aus der gleichen Gegend vorliegen und vorwiegend Erwachsene betreffen, ergibt sich, daß bei 334 Personen der rheinischen Bevölkerung (216 Erwachsene und 118 Jugendliche) in 12,6 Proz. eine Lamblieninfektion festgestellt werden konnte. Jugendliche sind bedeutend häufiger infiziert als Erwachsene, bei diesen fanden sich nur in 5,1 Proz. Lamblien, bei jenen dagegen in 26,3 Proz.

Die Lamblieninfektion verlief in einem Drittel der von mir festgestellten Fälle (10 von 30) symptomlos. Bei den übrigen zwei Dritteln wurden zwar Darmstörungen auf Befragen angegeben, diese Darmstörungen waren aber entweder meist leichterer Art oder lagen schon längere Zeit zurück, ein Zusammenhang mit der Lamblieninfektion ließ sich nicht beweisen. Ein Fall von Lamblienruhr wurde nicht beobachtet. Verhältnismäßig häufig fand sich eine Infektion bei tuberkulös belasteten Personen.

Literatur.

1) Bach u. Kiefer, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 27. 1923. S. 145. — 2) Matthews u. Smith, Parasitology. Vol. 12 u. 13. — 3) Fischer, Berlin. klin. Wochenschr. 1920. S. 7. — 4) Hage, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 107. — 5) Ders., Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 27. 1923. S. 93. — 6) Westphal u. Georgi, Münch. med. Wochenschr. 1923. S. 1080. — 7) Hetzer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 77. 1914. S. 304. — 8) Moritz u. Hölzl, Münch. med. Wochenschr. 1893. — 9) Kennedy u. Rosewarne, Lancet. 1916. p. 1163. — 10) Fantham, ibid. 1916. p. 1165. — 11) Rodenwaldt, Handb. d. pathog. Protozoen. 1921. Lief. 8.

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber eine durch Leberegel bedingte Seuche beim Meerschweinchen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. P. Uhlenhuth.)]

Von Dr. **Ludwig Schmidt,** Assistent am Institut.

Unter dem Meerschweinchenbestand des Hygienischen Instituts trat im Frühjahr dieses Jahres ein Massensterben auf, das auf die Infektion mit dem Leberegel Fasciola hepatica (früher „Distomum hepaticum") zurückgeführt werden konnte.

Bei Schafen eine ganz gewöhnliche Erscheinung, ist dieser Parasit bisher nur selten bei Meerschweinchen gefunden worden.

Sohns (1) beschreibt Distomatose bei freilebenden Meerschweinchen auf Java. Bei der Sektion beobachtete er Höhlenbildungen in der Muskulatur mit derber Wand und dunkelbrauner Flüssigkeit, sowie Fasciolen als Inhalt; auch Lungen und Rückenmarkshäute waren affiziert, jedoch soll die Leber nur geringe Veränderungen aufgewiesen haben. Zu Beginn der Krankheit war zwar Hepatitis sowie Auflagerung junger Fasciolen von 1—3 mm Länge vorhanden; in späteren Stadien wurden Veränderungen der Leber aber fast stets vermißt.

Bei den 12 im Hygienischen Institut beobachteten Fällen wiesen die Tiere zu Lebzeiten ein uncharakteristisches Krankheitsbild mit Abgeschlagenheit, Freßunlust, Abmagerung und in einzelnen Fällen Auftreibung des Bauches auf. Entsprechend ergab die Sektion bei einzelnen Tieren kleinere oder größere Mengen von Ascitesflüssigkeit (spezifisches Gewicht 1011), die in einem Fall $^1/_5$ des Körpergewichts ausmachte. Durchgehend wies aber die Leber, im Gegensatz zu den Beobachtungen von Sohns, die Hauptveränderungen auf. Sie war meist vergrößert und mit den Nachbarorganen verwachsen; bei der Loslösung entleerte sich aus einzelnen, dadurch eröffneten Höhlen schmutziggelbe Flüssigkeit, untermischt mit bröckeligen Massen. Besonders schwere Veränderungen wiesen die Gallengänge auf; ihr Lumen war aufgetrieben, ihre Wandung stark verdickt; sie enthielten regelmäßig Leberegel, 1—5 an der Zahl, die durchschnittlich 25 mm lang und 10 mm breit waren, also etwas kleiner, als man sie beim Schaf findet. Nur in einem Falle wurden Leberegel vermißt; die mikroskopische Durchmusterung der bröckeligen Schmiere aus einer Höhle der Leber zeigte jedoch die charakteristischen Leberegeleier: offenbar waren die Leberegel selbst aufgelöst worden und nur die chitingepanzerten Eier hatten der Auflösung standgehalten. Mikroskopisch[1]) fand sich, ähnlich wie bei Distomatose anderer Tiere und des Menschen, das Bild der Cholangitis und Pericholangitis mit Lebercirrhose: das periportale Bindegewebe war stark gewuchert, die

1) Den histologischen Befund verdanke ich Herrn Privatdoz. Dr. Anders vom Pathologischen Institut.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

azinöse Zeichnung weitgehend aufgehoben. Innerhalb des gewucherten Bindegewebes war das Lebergewebe hochgradig atrophiert. Im erhaltenen Lebergewebe fand sich Stauung, sowie Verfettung der Leberzellen. Die Gallengänge waren reparatorisch stark gewuchert, einzelne erschienen erweitert.

Bei 7 von den 12 zur Untersuchung gelangten Tieren waren die beschriebenen, auf die Leberegelinfektion zuzückzuführenden Veränderungen als Todesursache anzusprechen; bei den übrigen Tieren war außer Distomatose noch ausgebreitete Pseudotuberkulose vorhanden. Eines der leberegelkranken Tiere wurde in der Agone entblutet. In dem Serum ließen sich Präzipitine gegen Leberegeleiweiß nicht nachweisen; im Komplementbindungsversuch trat jedoch komplette Hemmung ein:

Inaktiviertes Serum von		Wäßriger Extrakt aus Fasciola hepatica	Frisches Meerschweinchenserum als Komplement	Physiologische NaCl-Lösung	Hämolytisches System entsprechend Vorversuch	Ergebnis
leberegelkranken Meerschweinchen	gesunden Meerschweinchen					
0,3	.	0,2	0,05	0,95	1,0	komplette Hemmung
0,3	.	0,3	0,05	0,85	1,0	dgl.
0,3	.	0,4	0,05	0,75	1,0	dgl.
.	0,3	0,2	0,05	0,95	1,0	fast komplette Lösung
.	0,3	0,3	0,05	0,85	1,0	dgl.
.	0,3	0,4	0,05	0,75	1,0	dgl.
0,3	.	.	0,05	1,15	1,0	komplette Lösung
.	0,3	.	0,05	1,15	1,0	dgl.
.	.	0,4	0,05	1,05	1,0	fast komplette Lösung

Wurde der Leberegelextrakt durch einen Wassermannschen Extrakt aus syphilitischer Leber ersetzt, so erfolgte nur eine Spur Hemmung.

Frühere Versuche (2), die bei Distomatose des Menschen und der Schafe Komplementbindung feststellten, werden hierdurch auch für Meerschweinchen bestätigt.

Ueber das Zustandekommen der Infektion ist folgendes zu sagen:

Gemäß dem bekannten Generationswechsel entwickelt sich das mit dem Rinder- oder Schafkot entleerte Leberegelei im Wasser von Tümpeln und Pfützen zum Miracidium. Dieses befällt die Wasserschnecke Limnaeus truncatulus, wird in ihr zur Sporozyste, verläßt sie wieder als Cercarie und enzystiert sich schließlich am Grashalm. Bei der von Sohns beobachteten Distomatose der wildlebenden Meerschweinchen auf Java erfolgte die Infektion durch Fressen von Gras, an dem Cercarien enzystiert waren.

Schon vor 30 Jahren gelang es Lutz (3) im Laboratoriumsversuch, Meerschweinchen durch Verfütterung von enzystierten Cercarien mit Fasciola hepatica zu infizieren. Spontaninfektion bei Stallmeerschweinchen ist dagegen unseres Wissens bisher noch nicht beschrieben: offenbar sterben die gewiß oft am Gras enzystierten Cercarien durch den Trocknungsprozeß beim Heumachen ab.

In unserem Falle dürfte die Infektion wohl auf folgende Weise zu erklären sein: 6 Monate vor dem beschriebenen Meerschweinchensterben waren die Tiere mehrere Male mit Gras gefüttert worden, das im Garten des Instituts geschnitten war. Regelmäßig weideten dort Schafe, die zur Gewinnung von Hammelblutkörperchen zur Wassermannschen Reaktion gehalten werden. Die mikroskopische Untersuchung des Schafkotes ergab nun Leberegeleier, und mit aller Wahrscheinlichkeit sind

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

die aus ihnen ausgeschlüpften Miracidien von Wasserschnecken aus dem kleinen Teich des Institutsgartens aufgenommen worden. Damit waren alle Vorbedingungen zur Weiterentwicklung der Leberegelzwischenformen und damit zur Infektion der Meerschweinchen, die mit dem Grase des Gartens gefüttert wurden, gegeben. Da in hygienischen Instituten und bakteriologischen Untersuchungsämtern häufig Schafe und Meerschweinchen gleichzeitig gehalten werden, dürfte nicht ganz selten die Gefahr einer Distomatose für die Meerschweinchen bestehen. Bei den Schafen bleibt diese Erkrankung meist unbemerkt, den Meerschweinchen dagegen kann sie verhängnisvoll werden.

Zusammenfassung.

Leberegelerkrankung der Meerschweinchen war bisher nur bei freilebenden und bei künstlich infizierten Tieren beobachtet. Ein seuchenartiges Auftreten des Leberegels (Fasciola hepatica) bei Meerschweinchen im Stall wird beschrieben und auf Distomatose von Schafen zurückgeführt. Auf die Gefahren, die aus gleichzeitiger Zucht von Schafen und Meerschweinchen entstehen können, wird hingewiesen.

Literatur.

1) Sohns, I. Ch. F., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1916. S. 130. — 2) Servanti, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 84. 1921. p. 699; referiert im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 72. 1921. S. 245. — 3) Lutz, A., ebenda Bd. 13. 1893. S. 320.

Nachdruck verboten.

Ueber die Benutzung von Fleisch an Stelle von Serum als Antigen bei der Herstellung von präzipitierenden Antiseren für die biologische Nahrungsmitteluntersuchung.

[Aus der bakteriologischen Abteilung (Serologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamts.]

Von **P. Manteufel** und **Y. Tomioka.**

Die präzipitierenden Antisera für die Praxis der biologischen Fleischuntersuchung werden gewöhnlich nicht mit Fleischantigen, sondern mit Serumantigen hergestellt. Da das zur biologischen Untersuchung kommende Fleisch und die daraus hergestellten Fleischwaren gewöhnlich auch Blut enthalten, erweisen sich die mit Serum als Antigen hergestellten Antisera in der Regel für den Zweck auch brauchbar. Trotzdem kann es keinem Zweifel unterliegen, daß derartige Antisera ungeachtet hoher Titerwerte gegenüber dem homologen Serum oder Blut bei der Prüfung mit dem entsprechenden Muskelfleisch manchmal auffallend schlecht reagieren, in einzelnen Fällen unter Umständen auch ganz versagen. Deshalb hat W. A. Schmidt (1) schon 1908 auf Grund von Vergleichsuntersuchungen die Notwendigkeit betont, diese präzipitierenden Antisera für die Nahrungsmitteluntersuchung mit Muskelfleisch als

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antigen herzustellen. Da ihm die bis dahin veröffentlichten Immunisierungsverfahren von Nötel (2) und Ruppin (3) mit unfiltrierten Fleischpreßsäften unbefriedigende Ergebnisse, d. h. zu große Tierverluste ergaben, versuchte er es mit Berkefeld-Filtraten aus solchen Preßsäften und glaubte damit alle Schwierigkeiten beseitigt zu haben. Das ist aber nach den Erfahrungen im Reichsgesundheitsamt leider nicht der Fall, und man kann wohl im allgemeinen sagen, daß sich die Schmidtsche Forderung, obzwar sie durchaus begründet ist, bisher in der Praxis nicht durchgesetzt hat.

Man weiß jetzt, daß die Tierverluste bei der Immunisierung mit Fleischpreßsäften nicht durch bakterielle Verunreinigung des Injektionsmaterials bedingt sind, wie es W. A. Schmidt annahm, sondern durch die primäre Organgiftigkeit artfremden Eiweißes. Wenngleich diese nach den Untersuchungen von Dold (4) zu einem großen Teil durch die Berkefeld-Kerzenfiltration aus den Organsäften entfernt werden kann, bleibt doch nicht zu verkennen, daß die wiederholte Einspritzung solcher Filtrate immerhin zu starken Abmagerungen und Gesundheitsstörungen der Versuchstiere führt, die nicht nur Verluste, sondern auch schlechte Antikörperlieferung verursachen. Dazu kommt, daß auch steril aufbewahrte Fleischsaftpräparate schlecht haltbar sind, sondern nach gewisser Zeit ausfallen, so daß man das gleiche Antigen nicht längere Zeit hintereinander benutzen kann, sondern öfter erneuern muß; das ist bei sterilem Blutserum nicht nötig und läßt die Benutzung des Fleischantigens bei der Immunisierung deshalb als umständlich und teuer erscheinen.

Wenn also die Beobachtung, daß Fleischantisera für die biologische Nahrungsmitteluntersuchung geeigneter sind als Serumantisera, nach den Erfahrungen im Reichsgesundheitsamt als richtig und beachtenswert bezeichnet werden kann, so muß doch andererseits gesagt werden, daß sich das von W. A. Schmidt dafür empfohlene Verfahren der Immunisierung mit filtriertem Fleischwasser für den täglichen Gebrauch nicht als praktisch erwiesen hat. In erster Linie wird in der gegenwärtigen Zeit der hohen Kosten für Kaninchen der nicht unerhebliche Verlust an Tieren und die geringe Ausbeute an hochwertigen Immunseren als abträglich empfunden, in zweiter Linie die schlechte Haltbarkeit der Fleischwasserfiltrate, die ebenfalls Mehrkosten bedingt. Dazu kommt schließlich noch ein dritter Umstand, der durch die Forssmansche Entdeckung (5) der sogenannten „heterogenetischen“ Hämolysine in die Erscheinung getreten ist. Diese das Spezifitätsgesetz in gewissem Sinne durchbrechenden Hämolysine entstehen bekanntlich gerade bei der Immunisierung mit Organzellen oder -Säften. Friedberger und seine Mitarbeiter Collier und Jarre (6) haben bekanntlich die Vermutung ausgesprochen, daß in ähnlicher Weise, wie durch die Immunisierung mit Organzellen nach den Befunden von Forssman „unspezifische“ (heterogenetische) Hämolysine entstehen, auch unspezifische Präzipitine gebildet werden, die den spezifischen Wert solcher Organantisera natürlich in Frage stellen würden. Manteufel und Beger (7) haben zwar bei Immunisierung von Kaninchen mit Pferdenierenzellen, die zu einem Auftreten von heterogenetischen Schafhämolysinen führte, keine heterogenetischen Präzipitine für Schafeiweiß entstehen sehen und halten die Vermutung von Friedberger und seinen Mitarbeitern auch aus anderen Gründen nicht für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zutreffend, aber es hat sich doch beim längeren Arbeiten mit Fleischantiseren der Eindruck ergeben, daß sie in größerem Umfange als die Serumantisera mit dem Eiweiß nicht verwandter Tiere, allerdings ohne Bevorzugung von Schafeiweiß, heterologe Trübungen verursachen. Solche heterologen Trübungen können aber, auch wenn sie nicht das in Greifswald beobachtete erhebliche Ausmaß bis zur Höhe des homologen Titers und mehr erreichen, unter den heutigen Verhältnissen ein empfindlicher Uebelstand sein, weil sie einen Teil der für die praktische Verwendung hergestellten Antisera zur Verwendung in der Praxis unbrauchbar machen (nach der Zusammenstellung bei Manteufel und Beger etwa 13 Proz.). Wenn also, wie nach den Erfahrungen anzunehmen ist, die Verwendung von Fleischauszügen bei der Herstellung von Antiseren eine verstärkte Neigung zur Bildung übergreifender Präzipitine zur Folge hat, so wäre das ein weiterer Umstand, der gegen die Verwendung von Fleischwasser an Stelle von Blutserum sprechen würde.

Nun haben die Untersuchungen von Weil und Felix (8) über den Doppeltypus der Agglutinogene der bereits von früheren Autoren (9) geäußerten Ansicht einer ähnlichen Unterschiedlichkeit der präzipitogenen Rezeptoren neue Nahrung gegeben, und man hat neuerdings den Versuch gemacht, die Nebenrezeptoren des nativen Präzipitogens unwirksam zu machen, um auf diese Weise die Spezifität der Eiweißantisera zu erhöhen. Fujiwara (10) hat beispielsweise, ohne auf diesen Gedankengang Bezug zu nehmen, festgestellt, daß man durch Verwendung von kochkoaguliertem Serum als Antigen hochwertigere und spezifischere Antisera gegen Menschenblut gewinnen könnte als mit nativem Menschenserum. Unter den 10 in seiner Zusammenstellung aufgeführten Menschenantiseren befinden sich sogar 3, die bei einem homologen Titer von 1:10000 bis 1:50000 auf das verwandte Affenserum in der Verdünnung 1:10 ganz ohne Wirkung, also außerordentlich artspezifisch sind. In ähnlicher Weise hat man bekanntlich (Weil-Felix-Mitzenmacher) auch durch Immunisierung mit gekochten Proteusbazillen eine spezifischere Einstellung des Antiserums auf die kochbeständigen Rezeptoren der O-Form dieses Bazillus erzielt.

Daß die Präzipitogene des Blutserums eine erhebliche Resistenz gegen Erwärmen besitzen, war bereits durch umfangreiche Untersuchungen von W. A. Schmidt (16) festgestellt, doch mußte man aus diesen Untersuchungen schließen, daß ein mit über 70° erhitztem Serumeiweiß hergestelltes präzipitierendes Antiserum natives Serumantigen nur mehr wenig oder gar nicht ausflocken würde. Fujiwara bemerkt in dieser Beziehung dagegen nur, daß bei der Reaktion seiner Antisera mit Nativserum das Volumen des Präzipitates geringer sei als bei Verwendung der mit Nativserum erzeugten Antisera, doch fiele der Reaktionsring sehr scharf und deutlich aus. Auf Grund von Erfahrungen, die Beger im Reichsgesundheitsamt mit der Methode von Fujiwara gemacht hat (die Arbeit erscheint in dieser Zeitschr.), ist dazu ergänzend zu bemerken: Die nach der Uhlenhuthschen Anweisung gemachten Reaktionen treten bei den mit kochkoaguliertem Serumeiweiß erzeugten Antiseren nicht so massiv auf wie bei einem hochwertigen Antiserum, das mit Nativeiweiß gewonnen ist, sondern die Ringbildung ist mehr strichförmig und manchmal wie mit der Feder gezeichnet, aber deshalb nicht minder deutlich. Auch ein etwas zögerndes Eintreten der Ringbildung, die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine Verlängerung der Beobachtungszeit von 10 auf 30 Min. ratsam erscheinen läßt, ist für diese Antisera charakteristisch. Als sicher ist jedenfalls aus diesen Nachprüfungen zu entnehmen, daß man mit kochkoaguliertem Serumeiweiß hochwirksame Präzipitine gegen Nativantigen erhalten kann, die auf heterologes Eiweiß fast gar nicht übergreifen. Auch wenn eine häufige Behandlung der Tiere voraufgegangen war, wie sie nach unseren Erfahrungen bei der Verwendung von Nativantigen besonders zum Entstehen übergreifender Antisera Veranlassung gibt, bleibt die Spezifität der Antisera erhalten. Eine grundsätzliche Verwendung dieses Antigens in der Praxis scheint leider, soweit sich aus der immerhin geringen Zahl von Versuchen schließen läßt, dadurch beschränkt zu sein, daß die intravenöse Einspritzung mit dem Fujiwara-Antigen meistens eine alsbaldige Thrombosierung und Verstopfung der Venen im Gefolge hat und die intraperitoneale häufig nur zur Erzielung geringwertiger Antisera führt, die sich zur Abgabe für die praktische Verwendung weniger gut eignen. Es wäre aber denkbar und zu erstreben, daß sich die erwähnten praktischen Mängel des kochkoagulierten Antigens in Zukunft beseitigen lassen.

Durch die Untersuchungen von Sordelli, Fischer, Wernicke und Pico (11) ist bekannt, daß die Organrezeptoren, die nach Forssman zur Bildung der „heterogenetischen" Ambozeptoren Veranlassung geben, durch Alkohol aus dem Organeiweiß ausgezogen werden können und sich darin lösen. Es muß sich also um alkohollösliche Stoffe ohne Proteincharakter handeln, und so lag daher der Gedanke nahe, das Eiweißpräzipitinogen durch Alkoholextraktion von derartigen Beimengungen zu befreien, die vielleicht die Ursache für die Entstehung „übergreifender" Antisera sein konnten. Das konnten Lipoide oder ähnliche Stoffe sein, wie sie von Friedberger und Lasnitzki (12) sowie neuerdings von E. K. Wolff (13) als Ursache störender Mitreaktionen beim spezifischen Antigen-Antikörpernachweis angesehen werden. Die beiden ebengenannten Autoren haben diese Reagine durch Aetherextraktion aus dem Antigen entfernt. Nach den Versuchen von Dold und Ogata (15) kann man zudem mit der Möglichkeit rechnen, daß mit Lipoidlösungsmitteln behandelte Organextrakte an Giftigkeit verlieren. Wir haben aus anderen Gründen versucht, durch Verwendung von Alkoholpräzipitaten aus Fleischauszügen spezifische und gleichzeitig haltbare Eiweißantigene darzustellen. Aus verschiedenen Ueberlegungen sind wir bezüglich der Technik dann auf ein Verfahren abgekommen, das Tsukasaki (14) 1920 veröffentlicht hat. Der Autor suchte nach einer Methode, um aus Leichenblut ein haltbares Antigen für die Herstellung präzipitierender Antisera zu gewinnen, und empfiehlt folgenden Weg: Das Leichenblut wird mit physiologischer Kochsalzlösung auf die 3- bis 4fache Menge aufgefüllt und ausgelaugt. Die durch Absitzen oder Zentrifugieren geklärte Flüssigkeit wird mit Alkohol versetzt, bis die Proteine ausflocken, und dann durch Papier filtriert. Der Filterrückstand wird dann noch 3—4mal mit Alkohol ausgezogen und schließlich im Exsikkator getrocknet. Die getrocknete Masse wird zu einem „Serumpulver" (eigentlich Blutpulver) verrieben und zwecks Einspritzung jedesmal in der Menge von etwa 0,05 g mit 4—5 ccm Kochsalzlösung zu einer feinen Aufschwemmung verrieben.

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wir benutzten dieses Verfahren in der Weise, daß wir mit destilliertem Wasser, dem nach W. A. Schmidt je Liter 5 mg Magnesiumoxyd zur Neutralisierung der Fleischmilchsäure zugesetzt war, aus gehacktem Fleisch wässerige Auszüge herstellten, diese von der Fleischmasse abfiltrierten und dann durch Zusatz von Alkohol ausfällten. Für je 100 ccm Fleischwasser braucht man dabei etwa 50 ccm 96-proz. Alkohol. Der durch Alkohol erzeugte Niederschlag wurde dann getrocknet und in der von Tsukasaki angegebenen Weise zu Pulver verarbeitet, das im Bedarfsfalle mit isotonischer Salzlösung zu einer feinen Aufschwemmung verrieben wurde. Diese Verreibung kann Kaninchen bei einiger Vorsicht intravenös verabfolgt werden — in diesem Falle gaben wir 0,02 g von dem Pulver in etwa 5 ccm isotonischer Kochsalzlösung — man kann aber auch intraperitoneal spritzen und dann größere Dosen (0,05 g) nehmen.

In Bestätigung der Angaben von Tsukasaki gelang es, durch etwa 5—10malige Einspritzungen in Zeitabständen von 2—3 Tagen hochwertige Antisera zu erhalten, und zwar haben in unseren Fällen diese Alkoholpräzipitate häufiger ein hochwertiges Immunserum geliefert als die zum Vergleich mit kochkoaguliertem Eiweißpulver immunisierten Kaninchen.

In bezug auf die Wirksamkeit des Antigens scheint also die Verwendung von Alkoholpräzipitaten für die Praxis ergiebiger zu sein als die von Kochpräzipitaten. Bezüglich der Spezifität sind die der Alkoholfällung und Extraktion unterworfenen Antigene den kochkoagulierten mindestens nicht unterlegen. Was die Haltbarkeit des Antigens anlangt, so haben wir darüber noch keine eigenen Erfahrungen, indes hat Tsukasaki ein Antigen mindestens 1 Jahr lang unverändert wirksam gefunden.

Als besonders eindrucksvoll bezüglich der spezifischen Eigenschaften des Alkoholpräzipitatantigens sei hier ein Versuch erwähnt, bei dem 3 Kaninchen 10mal hintereinander mit Hirschfleischantigen (Fleischpulver) gespritzt wurden. Alle 3 Tiere lieferten ein hochwertiges Antiserum für Hirscheiweiß (Fleisch und Serum) ohne irgendwelche nennenswerte heterologe Nebenwirkung, abgesehen von den Verwandtschaftsreaktionen, auf die wir noch zurückkommen werden. Wir müssen nach unseren Erfahrungen annehmen, daß bei einer so häufigen Vorbehandlung mit Nativantigen Antisera von der gleichen Wertigkeit sicher mindestens zum Teil heterologe Trübungen in störender Höhe gezeigt haben würden.

Nach den Angaben von Tsukasaki bestand die Möglichkeit, daß die mit Alkohol-Eiweißpräzipitat hergestellten Antisera sich auch hinsichtlich der Verwandtschaftsreaktionen spezifischer verhalten würden als die mit nativem Eiweißantigen erzeugten. Von den in seiner Arbeit genannten 10 Menschenantiseren, die mit „Blutpulver“ hergestellt waren, reagierte nämlich eines auch mit der 10fachen Verdünnung von Affenserum gar nicht, 8 griffen bei einem homologen Titer von 1 : 10 000 bis 1 : 50 000 auf Affenserum nur bis zur 1000fachen Verdünnung über, und nur eines, das sich im ganzen wesentlich unspezifischer verhielt, indem es auch mit der 1000fachen Verdünnung von Rinder-, Pferde- und Hundeserum präzipitierte, griff bei einem homologen Titer von 1 : 100 000 auf Affenserum bis zur 20 000fachen Verdünnung über.

Unsere eigenen Erfahrungen in dieser Beziehung erstrecken sich vorläufig nur auf 3 Rindfleisch- und 3 Hirschfleischantisera. Die 3 Rind-

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

fleischantisera hatten einen homologen Titer von 1 : 10 000 und reagierten mit der 100fachen Verdünnung von Hammelserum und Ziegenserum gar nicht. Mit der etwa 300fachen Fleischauszugsverdünnung dieser 3 Tierarten, wie im praktischen Versuch nach Uhlenhuth angesetzt, reagierten sie nur mit dem Rindfleischantigen, nicht aber mit dem verwandten Schaf- und Ziegenfleischantigen, d. h. sie ermöglichten auch trotz der nahen Verwandtschaft dieser 3 Tierarten eine absolut spezifische Diagnose auf Rindfleischantigen. Die 3 Hirschfleischantisera reagierten dagegen mit Rinder-, Ziegen-, Hammel- und Rehserum ziemlich stark und ließen, auch mit der etwa 300fachen Fleischauszugsverdünnung dieser 5 Tierarten angesetzt, keine eindeutige Diagnose auf Hirschfleisch zu.

Die Ergebnisse mit den 3 Rindfleisch- und 3 Hirschfleischantiseren sind also in dieser Hinsicht nicht gleichsinnig ausgefallen, und es dürften zunächst weitere Erfahrungen abzuwarten sein, die über die Leistungsfähigkeit dieses Alkoholpräzipitatantigens bezüglich der Verwandtschaftsdifferenz Aufschluß geben.

Zusammenfassung.

1) Es empfiehlt sich, in Bestätigung der Angaben von W. A. Schmidt, als Antigen bei der Herstellung von präzipitierenden Antiseren für die Fleischuntersuchung nicht Blutserum, sondern Fleischauszug zu benutzen.

2) Fleischantisera reagieren im Präzipitationsversuch gewöhnlich auch mit den entsprechenden Blutseren in ausreichendem Grade, während Blutantisera oder Serumantisera mit den entsprechenden Fleischauszügen nicht selten schlecht reagieren.

3) Wäßrige, nach den Angaben von W. A. Schmidt durch Sterilfiltration gewonnene Fleischauszüge haben den Nachteil, daß sie oft spontan ausflocken und deshalb nicht lange in der ursprünglichen Beschaffenheit haltbar sind. Ferner werden sie bei öfteren Einspritzungen von den Kaninchen schlecht vertragen, indem sie meist chronische Gesundheitsstörungen verursachen, die zu Gewichtsverlust und Beeinträchtigung der Antikörperproduktion führen. Schließlich neigen die mit nativem Fleischsaft hergestellten Antisera anscheinend auch mehr zur Bildung heterologer Trübungen als die mit nativem Serum hergestellten. Diese Nachteile mögen auch der Grund sein, weshalb sich die Forderung von W. A. Schmidt, Antisera zur biologischen Nahrungsmitteluntersuchung nicht mit Serum, sondern mit Fleisch herzustellen, in der Praxis der Nahrungsmitteluntersuchung bisher nicht durchgesetzt hat.

4) An Stelle des wäßrigen Fleischauszuges wird ein mit Alkohol gefällter und mit Alkohol gewaschener Niederschlag aus Fleischwasser empfohlen, der in getrocknetem Zustande aufbewahrt werden kann und zwecks Einspritzung mit isotonischer Kochsalzlösung zu einer feinen Aufschwemmung verrieben wird.

5) Dieses Antigen hat erstens den Vorzug der Haltbarkeit bei der Aufbewahrung und erzeugt zweitens nach den vorliegenden Erfahrungen Antisera, die weniger Neigung zu unspezifischen Nebenpräzipitationen

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zeigen als die mit Nativserum oder Nativfleischauszug hergestellten Antisera.

6) In bezug auf Wirksamkeit scheinen die mit Alkoholpräzipitaten hergestellten Eiweißantisera auch den nach der Methode von Fujiwara mit kochkoaguliertem Eiweiß als Antigen gewonnenen überlegen zu sein.

7) Die Spezifität dieser Antisera bezüglich der Verwandtschaftsreaktionen bedarf weiterer Untersuchung.

Quellenangaben.

1) Schmidt, W. A., Untersuchungen über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiß-Antisera für die Fleischdifferenzierung. (Biochem. Ztschr. Bd. 5. 1907. S. 492.) — 1a) Ders., Studien über Präzipitinreaktion und erhitzte Eiweißstoffe. (Ebenda. Bd. 14. 1908. S. 294). — 1b) Ders., Ueber ein Präzipitin, welches es ermöglicht, auch gekochtes (unlösliches) Eiweiß zu differenzieren. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 13. 1912. S. 166.) — 2) Nötel, Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Pferdefleisch. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 373.) — 3) Ruppin, E., Zum Nachweis von Pferdefleisch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmitt. Bd. 5. 1902. p. 356.) — 4) Dold, H., Ueber die Giftigkeit von wäßrigen Organextrakten usw. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 10. 1911. S. 53.) — 5) Forssman, J., Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolysine ohne Verwendung von Schafblut. (Biochem. Ztschr. Bd. 37. 1911. S. 78.) — 6a) Friedberger, E., u. Collier, A., Ueber heterogenetische Antisera und Antikörper. VII. Heterogenetische Fische Präzipitine. (Ztschr. f. Immf. Bd. 28. 1919. S. 237.) — 6b) Friedberger u. Jarre. (Ebenda. Bd. 30. 1920. S. 11.) — 7) Manteufel, P., u. Beger, H., Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren. (Ebenda. Bd. 33. 1921. S. 348.) — 8) Weil. E., u. Felix, A., Ueber den Doppeltypus der Rezeptoren in der Typhus-Paratyphus-Gruppe. (Ebenda. Bd. 29. 1920. S. 24.) — 9) Fornet, W., u. Müller, M., Praktische und theoretische Präzipitinuntersuchungen. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910. S. 215.) — 10) Fujiwara, K., Kochkoaguliertes Serum als Präzipitinogen. (Ztschr. f. d. ges. gerichtl. Med. Bd. 1. 1922. S. 562.) — 11) Sordelli, A. H. Fischer, Wernicke et Pico, Sur les anticorps hétérogenétiques. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 84. 1921. p. 178.) — 12) Friedberger, E., u. Lasnitzki, A., Untersuchungen über die Natur des heterogenetischen Präzipitins. (Klin. Woch. 1922. Nr. 32. S. 1607.) — 13) Wolff, E. K., Die biologische Differenzierung des Organeiweißes. (Ebenda. 1923. Nr. 28. S. 1304.) — 14) Tsukasaki, R., On the alcoholprecipitate of serum as antigen. (Tohoku Journ. exp. Med. Vol. 3. 1922. p. 653. — 15) Dold, H., u. Ogata, S., Weitere Beiträge zur Kenntnis der wäßrigen Organextraktgifte. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 16. 1913. S. 475.)

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über „Bayer 205“.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes. (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. L. Haendel.)]

Von **L. Lange** (Berlin) und **H. E. Kersten** (Münster).

Haendel und Jötten (1) haben schon in der 1. Arbeit über „Bayer 205“ von der außerordentlich günstigen Wirkung des Präparates auch auf die Erreger der Schlafkrankheit Mitteilung gemacht und dabei auf Untersuchungen von uns über die Beeinflussung der experimentellen Infektion mit Gambiense-Trypanosomen hingewiesen.

Da unsere Versuche zu einer vollen Bestätigung der Angaben von Haendel und Jötten wie auch der Untersuchungen von Mayer und Zeiss (2) und Mayer (3) u. a. geführt haben und inzwischen neben einigen Einzelbeobachtungen auch die Berichte von Kleine und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fischer (4) über die Anwendung des Mittels beim Menschen vorliegen, soll hier von einer ausführlichen Wiedergabe unserer Versuchsreihen abgesehen und nur über einzelne Beobachtungen berichtet werden.

Giftigkeit. Zunächst sei hier die Frage der Giftigkeit des Mittels nochmals kurz erörtert, weil hierüber die Angaben der Autoren etwas abweichen und weil wir bei unseren Versuchen Gelegenheit hatten, auch ältere, zum Teil über 40 Monate lang aufbewahrte, fertige Lösungen des Mittels zu verwenden.

Während Haendel und Jötten 18—20 mg als toxische Dosis für Mäuse angeben, in Ausnahmefällen einzelne ihrer Versuchsmäuse sogar 30 mg vertrugen, liegt nach Mayer und Zeiss die toxische Dosis für diese Tiere bei 10 mg, nach Miessner und Berger (5) bei 10—15 mg.

Das Präparat wurde von uns in der Regel in steriler 0,85-proz. Kochsalzlösung in Konzentrationen von 10 oder 20 Proz. aufgelöst und mit oder ohne Aufkochen verschieden lange Zeit aufbewahrt. Die endgültig einzuspritzenden Verdünnungen wurden meist kurz vor der Anwendung hergestellt, während in einigen Versuchen auch ältere Stammlösungen verwendet wurden. Vorweg sei bemerkt, daß wir hinsichtlich der Wirksamkeit des Mittels niemals einen Unterschied feststellen konnten, sei es daß die Lösungen ganz frisch aus dem Pulver bereitet wurden, sei es daß sie durch Verdünnung älterer oder selbst Jahre alter Stammlösungen gewonnen waren.

Die eingespritzten Mengen waren stets auf 20 g Lebendgewicht-Maus berechnet. Da wir in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle 1 mg auf 20 g Maus gaben und unter unseren Tieren viele waren, die um 15 g herum schwer waren, ja ausnahmsweise auch ganz junge Tiere mit 9—10 g herangezogen werden mußten, schwankten die von uns eingespritzten Mengen, absolut genommen, zwischen 0,45 und 1 mg = 0,45 und 1,0 ccm einer Lösung 1 : 1000.

Meist wurde das Mittel intraperitoneal gegeben, häufig aber auch subkutan; ein Unterschied in der Wirkung trat auch hierbei nicht zutage.

Aus einer Zusammenstellung gesunder, nur hinsichtlich der Giftwirkung geprüfter Tiere, auf deren Wiedergabe in Tabellenform verzichtet werden muß, ergibt sich, daß von ganz frischen und bis zu 4 Tage alten Lösungen des Präparates, auf 20 g Maus berechnet, 20 mg in der Mehrzahl der Fälle vertragen wurden; nur 2 Tiere sind eingegangen. Eine Maus vertrug sogar noch 25 mg auf 20 g Körpergewicht berechnet. Berücksichtigt man die absoluten Werte der gegebenen Dosen, so ist 1 Maus von 15 g auf 15 mg nach $2^1/_2$ Std. gestorben — 1 andere mit gleicher Dosis gespritzte überlebte —; von 4 je 18 g schweren, mit 18 mg gespritzten Tieren starb nur 1, nach 13 Std., von 2 je 17 g schweren, mit 21,5 mg gespritzten Mäusen überlebte die eine, die andere ging ein. Alle Tiere, die mehr als 22,5 mg erhielten, starben infolge der Einspritzung.

Die Tiere, bei denen eine $7^1/_2$ Monate alte Lösung verwendet wurde, vertrugen bis zu 20 mg relativ; da das schwerste Tier 17,5 mg wog, also 17,5 mg absolut.

Bei jahrelangem Stehen der Lösung scheint nun eine Erhöhung der Giftigkeit einzutreten. Wir hatten Gelegenheit, eine Lösung zu prüfen, die vor 41 Monaten angesetzt worden war. Sie war von Jötten so hergestellt, daß in 100 ccm NaCl 100 g „Bayer 205“

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelöst wurden. Die Lösung war vor Licht geschützt in einer mit Glasstöpsel verschlossenen Flasche aufbewahrt worden.

Zur Zeit ihrer Verwendung hatte sie nach der Bestimmung durch Herrn Reg.-Rat Wedemann einen Gehalt von 62,17 Proz. Von dieser Lösung vertrug 1 Tier (Ms 16) 26,8 mg relativ, also, da das Tier 22 g wog, absolut 29,5 mg, demnach eine Dosis, die fast identisch war mit der bei den Versuchen von Haendel und Jötten beobachteten Ausnahmsdosis von 30 mg. Allerdings hatte dieses Tier das Mittel in konzentrierter, 24,8-proz. Lösung eingespritzt erhalten. Es handelt sich aber auch hier nur um eine einzelne Ausnahme, da sonst diese alte Lösung schon bei 17,5 mg relativ tötete, während, wie erwähnt, von der frischen Lösung im allgemeinen 20 mg relativ vertragen wurden.

Da die Ms 16 mit 22 g Körpergewicht verhältnismäßig schwer war, haben wir unsere Zusammenstellung auch auf den Einfluß des Gewichtes der Tiere auf die Toleranz hin geprüft.

Feste Beziehungen zwischen Tiergewicht und Toleranz ließen sich dabei jedoch nicht erkennen.

Auf Grund der erwähnten Beobachtung an Ms 16, deren Paralleltier die gleiche Menge, aber in 10facher Verdünnung erhalten hatte, vermuteten wir, der so große Unterschied in der Toleranz der beiden Tiere hänge damit zusammen, daß die überlebende Maus das Mittel in konzentrierter Lösung erhalten hatte, da hierdurch die Schnelligkeit der Resorption herabgesetzt und eine Art Depotwirkung eingetreten sein konnte.

Vergleichsversuche nach dieser Richtung ergaben, daß wohl manchmal die mit konzentrierter Lösung gespritzten Tiere eine stärkere Toleranz zeigten als die mit verdünnter Lösung injizierten. Diese Erscheinung trat aber nicht regelmäßig auf. Es handelt sich also bei der verschiedenen Toleranz der Tiere offenbar um individuelle Verschiedenheiten.

Zusammengefaßt ergeben unsere Versuche hinsichtlich der Toxizität des Mittels, daß die Dosis toxica um 18—20 mg herum liegt. Einzelne Tiere, und zwar nicht nur die schwersten (z. B. Ms 27 mit 17 g) vertrugen ausnahmsweise auch 25 und 26,8 mg rel. = 21,5 und 29,5 mg absolut. Sehr alte Lösungen weisen eine nur geringe Erhöhung ihrer Giftigkeit auf.

Heilwirkung. Bezüglich unserer Beobachtungen über die Heilwirkung des Mittels sei erwähnt, daß wir mit einer einzigen Ausnahme (Ms 96), auf die wir noch zu sprechen kommen werden, regelmäßig bei allen Tieren das dauernde Verschwinden der Trypanosomen, wenn auch öfters erst nach mehr als 24 Std. beobachtet haben. Nach 36 Std. war das Blut stets trypanosomenfrei. Nur ein Tier zeigte hiervon eine Abweichung, indem sich noch am 12. Tage sein Blut schwach trypanosomenhaltig erwies. Auf nochmalige Gabe von 0,25 mg ip. verschwanden die Trypanosomen, um 4 Tage später wieder aufzutreten. Nach erneuter Gabe von 0,5 mg war auch dieses Tier dauernd geheilt.

Da wir die Behandlung in der Regel erst vornahmen, wenn die Infektion auf dem Höhepunkt war und das Schwanzblut von Trypanosomen wimmelte, sahen wir mehrfach Mäuse trotz des Verschwindens der Parasiten nach wenigen Tagen eingehen. Gleich den anderen Autoren fassen wir dies als die Folge der Ueberschwemmung mit giftigen Zerfallsprodukten und Leibesbestandteilen der Erreger auf. Zum Teil werden aber auch die zurzeit außerordentlich erschwerten Fütterungsverhältnisse auf die Widerstandskraft der Tiere schädigend eingewirkt haben.

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Von den überlebenden Tieren konnten wir aber viele bis zu 10 Monate und länger unter ständiger Kontrolle halten, die sich stets frei von Trypanosomen erwiesen.

Aehnlich wie Haendel und Jötten ist es auch uns aufgefallen, daß die Dourine-Trypanosomen, die wir ebenso wie auch Nagana zum Vergleiche mit heranzogen, bei ihrem Zerfall mit noch größerer Häufigkeit tödlich wirkten, also noch giftiger waren, als unsere beiden Gambiense-Stämme.

Bei den Heilversuchen wurde das Mittel in der Mehrzahl der Fälle in Lösung 1 : 1000 in NaCl intraperitoneal, in weniger Fällen subkutan verabfolgt. Ein besonderer Einfluß des Ortes der Einspritzung trat dabei nicht zutage.

Die eingespritzten Mengen betrugen relativ 0,2, 0,25, 0,5, 1,0 mg.

Bei der verschiedenen Größe der Mäuse waren die absoluten Mengen sehr wechselnd; sie gingen ohne Einbuße an Heilwirkung bis auf 0,09 mg herab.

Nur in der ersten Zeit unserer Versuche hatten wir, wenn am nächsten Tage noch Trypanosomen im Schwanzblut gefunden wurden, die Einspritzung meist mit der gleichen Dosis wiederholt. Bald jedoch überzeugten wir uns, daß eine einmalige Einspritzung genügte. Die am nächsten Morgen noch aufgefundenen Trypanosomen erwiesen sich, auch wenn sie an Form und Beweglichkeit keine Veränderung zeigten, bei Blutverimpfung auf frische Mäuse ausnahmslos als nicht mehr virulent. Diese Beobachtung dürfte nicht allein darauf beruhen, daß das verimpfte infizierte Blut gleichzeitig 205 enthielt, sondern auf der bereits eingetretenen unmittelbaren Schädigung der Trypanosomen, da Reagenzglasversuche gezeigt haben, daß auch gewaschene Trypanosomen, welche der Wirkung von „205" ausgesetzt waren, avirulent waren (Haendel u. Jötten). Meist war eine direkte Schädigung der Erreger auch schon daran zu erkennen, daß die Bewegung der in behandelten Mäusen nach 24 Std. noch angetroffenen Trypanosomen sehr träge waren, die Parasiten klebrig erschienen und beim Vorbeischwimmen aneinander hafteten, um sich nach kürzerer oder längerer Zeit wieder voneinander zu lösen. Ihre Zahl war gegenüber dem Vortage meist vermindert. Doch beobachteten wir — allerdings bei einer Naganamaus — daß am übernächsten Tage nach der Einspritzung von 1 mg (bzw. 0,8 mg bei 16 g Maus) das Schwanzblut noch ebenso von Parasiten wimmelte, wie vor der Behandlung. Auf eine 2. Gabe von 0,8 mg ip. war am nächsten Tage das Blut parasitenfrei, die Maus ging aber nach weiteren 4 Tagen ein (Tryp.-Bef. bis zum Tode negativ).

Infolge dieser Schädigung der Trypanosomen war es uns auch nicht gelungen, „205"-feste Stämme zu erhalten.

Der schon erwähnte einzige Fehlschlag hinsichtlich der Heilwirkung (Ms 96) betrifft folgenden Fall:

Eine Maus 80 war am 28. 6. zusammen mit 5 anderen Mäusen von Ms 44 (Tr. ++++) ip. infiziert worden. Nachdem der Parasitenbefund am 5. Tage n. d. I. = +(+), am 7. 0, am 8. +, am 9. und 10. je +++ gewesen war, wurden am 11. Tage nur mehr ++ erhoben (am 12. sogar nur mehr (+); von da un erneuter Anstieg bis zum 17. Tage (dann Behandlung und Heilung). Am 12. Tage nach der Infektion Weiterimpfung auf Ms 90. Da bei dieser Maus nach 6 Tagen, am 15. 7., das Schwanzblut noch frei war, wurde sie mit dem stark tryp.-haltigen Blut einer der Parallelmäuse zu Ms 80, Ms 78 nachgeimpft. Am nächsten Tage war der Befund bereits +(+). An diesem Tage, 16. 7., wurde nun Ms 96 geimpft. 5 Tage später, am 21. 7, bei einem Befunde von +++, erhielt die Maus (12 g schwer) 0,6 mg „205") in frisch bereiteter Lösung 1 : 1000 ip. eingespritzt. Bereits am nächsten Morgen Bef. 0; das Schwanzblut

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

blieb im Laufe der nächsten 14 Tage bei 6maliger Untersuchung frei von Tr. bis zum 2. 8. Die nächste am 6. 8. vorgenommene Untersuchung ergab Tr. +!

Eine weitere Beobachtung war unglücklicherweise nicht möglich, da das Tier am 8. 8. von 2 der mit ihm im gleichen Glase untergebrachten Mäuse getötet worden war.

Bei einem großen Teil unserer Heilversuche konnten wir, wie erwähnt, zum Vergleiche ganz alte Lösungen mitheranziehen und so auch Erfahrungen über die Wirksamkeit des Präparates in solch alten, schon jahrelang aufbewahrten Verdünnungen gewinnen. Hierbei ergab sich, daß das Präparat auch unter diesen Bedingungen mindestens die gleiche Wirksamkeit ausübte wie bei Verwendung in frisch hergestellter Lösung. Eine wesentlich geringere wirksame Minimaldosis der alten Lösungen ließ sich dabei allerdings nicht feststellen, doch hatten wir den Eindruck, daß in der Schnelligkeit der Wirkung auf die Trypanosomen und in der Raschheit des Verschwindens der Parasiten die alten Lösungen den frischen sogar etwas überlegen erschienen.

Jedenfalls hat sich in unseren Versuchen eine außerordentlich lange Haltbarkeit des Mittels in seinen Lösungen erwiesen, so daß auch für die Praxis die Verwendung sehr alter Lösungen durchaus möglich ist.

Schutzwirkung. Aus unseren Beobachtungen bei den Untersuchungen über die Schutzwirkung bei rein prophylaktischen Schutzversuchen möchten wir besonders hervorheben, daß wir selbst an Tieren, welche nur 1 mg rel. ip. erhalten hatten, eine sicher bis zum 47. Tage reichende Schutzwirkung beobachten konnten, und zwar auch in solchen Fällen, in denen eine 2malige Nachimpfung mit Trypanosomen, nach 28 und nach weiteren 19 Tagen stattgefunden hatte.

Versuche, ob derartig vorbehandelte und ergebnislos nachgeimpfte Tiere durch diese Vorbehandlung eine länger dauernde Immunität erworben hatten, führten zu einem negativen Ergebnis, da solche Tiere bei einer weiteren nach 185 Tagen vorgenommenen Nachimpfung keinen Schutz mehr aufwiesen.

Auch bei den von uns mit dem Mittel geheilten Mäusen war eine länger dauernde Immunität nicht festzustellen. Allerdings zeigten Tiere, die an 2 aufeinanderfolgenden Tagen durch je 1 mg rel. ip. geheilt worden waren, 114 und 117 Tage nach der Heilung im Vergleich mit Kontrolltieren immer noch eine gewisse Resistenz, wenn auch keinen vollen Schutz. Während die Kontrollen in diesen Versuchen bereits am 9. Tage der Infektion erlagen, waren die geheilten Tiere am 17. Tage noch frei von Trypanosomen und gingen erst am 23. Tage an der Infektion zugrunde.

Nach 143 und 171 Tagen war auch eine solche Resistenzerhöhung nicht mehr festzustellen und jeglicher Schutz vollständig abgeklungen, indem die Infektion nach der Nachimpfung genau wie bei den Kontrollen verlief.

Eines näheren Eingehens bedarf ferner eine Beobachtung, die wir bei Ms 103 erhoben haben. Das Tier, das zunächst nicht behandelt worden war, zeigte am 7. und 10. Tage nach der Erstinfektion im Blute nur spärliche Trypanosomen. Vom 11. bis 124. Tage war dann, obwohl keine Behandlung stattgefunden hatte, das Blut ständig frei. Dann traten plötzlich wieder reichliche Trypanosomen auf, die auf 1 mg ip. am 125. Tage rasch abnahmen, so daß das Blut vom 126. bis zum 204. Tage wieder vollkommen frei war. An diesem Tage, = 79 Tage nach der Heilung, wurde die Maus nachinfiziert. In ihrem Blute waren bei fort-

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

laufender Kontrolle nach der Nachimpfung niemals Trypanosomen festzustellen. Auch eine unmittelbar vor und eine am 6. Tage nach der Nachimpfung abgeimpfte Maus blieb stets frei von Trypanosomen.

Daß aber Ms 103 infolge der Nachimpfung dennoch, wenn auch nur vorübergehend, latent infiziert war, ging daraus hervor, daß eine am 13. Tage mit ihrem Blute gespritzte Maus bereits 2 Tage später im Blute Trypanosomen aufwies und nach 26 Tagen der Infektion erlag. Spätere Nachimpfungen waren erfolglos.

Wir haben also hier den wichtigen Fall einer vorübergehenden latenten, nur durch Mäuseabimpfung feststellbaren Infektion im Anschluß an eine 79 Tage nach der Heilung erfolgte Nachimpfung vor uns.

Bei gleichzeitiger Infektion (ip.) und Behandlung (sk.) gaben Dosen bis herab zu 0,02 mg rel. völligen Schutz. Da die mit 0,02 mg rel. geschützte Maus nur 12 g wog, hatte sie eine absolute Menge von nur 0,012 mg erhalten, was noch unter der von Mayer und Zeiß angegebenen Mindestheildosis von 0,03 mg abs. steht.

Eine Ms 132, die bei 18 g Gewicht eine Mischung von gleichen Teilen trypanosomenhaltigen Blutes und der Verdünnung des Mittels 1:10000, nach 1 minutenlangem Kontakt, ip. erhalten hatte (absolute Dosis des miteingespritzten Mittels war 0,45 mg), und stets frei von Trypanosomen geblieben war, wies bei einer Nachinfektion nach 178 Tagen keinen Schutz mehr auf.

Anhangsweise sei erwähnt, daß wir das Mittel auch an einer größeren Zahl von Mäusen im Heilversuch geprüft haben, die mit Tr. rhodesiense infiziert waren. Auch hierbei bewährte es sich in Dosen von 1 mg ip. oder sk. ausnahmslos. Dagegen hatten wir in Übereinstimmung mit Haendel und Joetten und anderen Autoren, sowohl bei mit Tr. Lewisi behafteten Ratten als bei mit Schyzotrypanum Cruzi infizierten Meerschweinchen und Mäusen auch in den stärksten Konzentrationen und trotz wiederholter Anwendung keinerlei Erfolg zu verzeichnen. Ist dieses Versagen bei Sch. Cruzi durch die intrazelluläre Lagerung der Parasiten einigermaßen erklärlich, so kann eine derartige Erklärung für die nur in der freien Blutbahn anzutreffenden Rattentrypanosomen nicht herangezogen werden. Eine interessante Parallele hierzu sind die Feststellungen von Kleine und Fischer, wonach „205 Bayer“ auch gegen Tr. vivax bei Rindern und gegenüber Tr. caprae völlig versagte. Es scheint, als ob die Pathogenität erst den Stoffwechsel oder die Ad- und Absorptionsverhältnisse der Tr. derart gestaltete, daß sie für das Mittel besonders empfänglich werden.

Auch Kleine und Fischer beschäftigen sich in ihrem neuesten Bericht mit der Frage, warum verschiedene Tr.-Arten an sich und die gleichen Tr. in verschiedenen Tieren durch Bayer 205 verschieden beeinflußt werden. Sie stellen den Satz auf, daß am leichtesten gerade die Tiere zu heilen sind, die der natürlichen Infektion nicht ausgesetzt sind. Nach der Vorstellung dieser Forscher bildet die regelmäßig in der Natur infizierte Tiergattung infolge der ererbten Gewöhnung der Trypanosomen den geeignetsten Nährboden für die Parasiten, und in diesem günstigsten Medium sei deren Wachstum am schwersten durch Medikamente zu verhüten.

Beobachtungen mit „optimalen Nährböden“ bei Desinfektionsversuchen lassen diesen Gedankengang an sich als richtig erscheinen. Nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unserer Ansicht liegen aber hier die Dinge doch wohl etwas anders. Ein für eine bestimmte Tierart hochvirulenter Erreger findet gerade in dieser seinen optimalen Nährboden. Nur in ihr kann er sich ungehindert vermehren und das befallene Tier töten. Anders liegen die Verhältnisse aber in den Fällen, wo es sich um Infektion mit Erregern geringer Virulenz handelt, die mehr chronische Erkrankungen oder aber überhaupt keine Krankheitserscheinungen hervorzurufen mögen. Aus (nicht veröffentlichten) Untersuchungen, die der eine von uns (L.) an zahlreichen Paratyphus A-Fällen angestellt hat, geht eindrücklichst hervor, daß nicht nur der Erreger den befallenen Körper beeinflußt, sondern daß ebenso der Körper auf den Erreger einwirkt, ihn in seinem biologischen Verhalten (Vergärungskraft, Eiweißzersetzung, Agglutinabilität) beeinflußt, modifiziert. Wie bei einem reversiblen chemischen Vorgang stellt sich eine Art Gleichgewicht, man könnte sagen: biologisches Gleichgewicht" her. Gerade bei solchen Infektionen nun, die wie bei Lewisi der Ratten, Tr. caprae in der Ziege und Tr. bovis im Rind zu chronischen, klinisch fast völlig unbemerkbar verlaufenden Erkrankungen — wenn man derartige Zustände überhaupt noch als Erkrankung bezeichnen will — muß ein solches Gleichgewicht zwischen Schädigungskraft der Erreger und Widerstandskraft des befallenen Organismus vorhanden sein.

Schrankenlose Wucherung und Vermehrung des Erregers, wie sie auf einem „optimalen Nährboden" eintreten müßte, würde den Prozeß bald zu einem für das Tier oder den Menschen tödlichen Ende führen. Wir können also Kleine und Fischer darin nicht beipflichten, daß in den von ihnen herangezogenen Fällen die Trypanosomen einen optimalen Nährboden finden, möchten vielmehr eher das Gegenteil annehmen. Gerade wie, um nur eines der vielen sich darbietenden Beispiele zu nennen, bei der Tuberkulose der chronische Verlauf eben ein Anzeichen dafür ist, das der Nährboden durch die ererbten oder durch klinisch latent gebliebene Früh-(Erst)-Infektionen erworbenen Antikörper oder die Reizbereitschaft kein optimaler mehr ist.

Wir behalten uns vor, auf diese Gedankengänge, die wohl theoretisch wie praktisch nicht ohne Bedeutung sind, an anderer Stelle im Zusammenhang ausführlicher einzugehen.

Ein schrankenlos sich vermehrender vollvirulenter Erreger reißt in seinem gesteigerten, äußerst aktiven Stoffwechsel alles aus seiner Umwelt an sich, was ihm sozusagen in den Weg kommt, während abgeschwächte Keime sich darin mehr träge, „inert" verhalten.

Eine Stütze für diese Ansicht, soweit sie den vollvirulenten Erreger betrifft, sehen wir in der schon von Haendel und Jötten festgestellten Tatsache, daß sich in Mäuseblut befindliche Trypanosomen bei nur kurzem Kontakt mit Bayer 205 mit dem Mittel beladen, es trotz sofort angeschlossener Waschung nicht mehr abgeben und so, obwohl sie dann wieder auf einen optimalen Nährboden, nämlich in eine frische Maus, verimpft werden, jegliche weitere Vermehrungskraft und Virulenz verloren haben.

Diese experimentelle Beobachtung scheint uns durchgreifend gegen die Annahmen von Kleine und Fischer zu sprechen, während sie mit unserem eben gebrachten Erklärungsversuch gut übereinstimmen dürfte.

Zum Schlusse sei noch kurz auf eine Beobachtung hingewiesen, die uns bemerkenswert erscheint. Als wir im Frühjahr 1922 einige

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Versuchsreihen unserer vor längerer Zeit geheilten Tiere einer Nachinfektion mit dem Gambiensestamm „F" unterwarfen, trat bei diesen Mäusen, soweit sie nicht noch einen Schutz besaßen, also vor mehr als 3—4 Monaten behandelt worden waren, in wenigen Tagen eine geradezu massenhafte Vermehrung der Trypanosomen in der Blutbahn auf, so daß man annehmen mußte, der Tod würde in kürzester Zeit eintreten. Die Tiere gingen jedoch nicht ein, sondern die Infektion bildete sich im allgemeinen im Verlauf von 1 bis längstens 3 Tagen spontan wieder völlig zurück. Bei einzelnen Tieren war das Blut schon nach Ablauf von 24 Std. nach dem hochgradigen Befund ganz frei. Bei anderen Tieren wurden die Häufchen erst allmählich kleiner, nach 2 Tagen wurden nur mehr 2—3 Tryp. im ganzen Präparat gefunden, die dann am nächsten Tage verschwanden. Man hätte zunächst daran denken können, diese Erscheinung habe mit der früheren Vorbehandlung im Zusammenhange gestanden. Dies war jedoch nicht der Fall, denn die Kontrollen zeigten das ganz gleiche Verhalten.

Von hier ab war die Virulenz unseres Stammes wesentlich beeinträchtigt, denn bis zu dieser Beobachtung waren bei unseren Versuchen alle nicht behandelten Tiere mit einer Sicherheit von 100 Proz. eingegangen, wenn bei ihnen einmal eine derartige Blutüberschwemmung mit Trypanosomen aufgetreten war, und ein spontaner Rückgang war in einem derartigen Stadium der Infektion niemals festzustellen. Eine Virulenzsteigerung des aus diesen Versuchen gewonnenen Stammes gelang trotz zahlreichen sich über viele Monate erstreckenden Passagen durch Mäuse, auch durch Ratten und Meerschweinchen, nicht mehr.

Wir können für diese plötzlich aufgetretene Veränderung der Virulenz keine Erklärung geben. Ein etwaiger Zusammenhang nach der Richtung, daß diese Erscheinung darauf zurückzuführen wäre, daß die reinfizierten Mäuse früher mit „205" geheilt worden waren, ist nicht anzunehmen, da, wie erwähnt, der Stamm auch in ganz unbehandelten Kontrollen ein völlig übereinstimmendes Verhalten zeigte.

Literatur.

1) Berlin. klin. Wochenschr. 1920. S. 821. — 2) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 24. 1920. S. 257. — 3) Dtsch. med. Wochenschr. 1922. S. 1335. — 4) Dtsch. med. Wochenschrift 1922. S. 1693 u. ebenda 1923. Nr. 32. — 5) Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1922. S. 1114.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Anaërobentechnik.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie (Direktor Geheimrat v. Wassermann).]

Von **Ernst Kadisch.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Während noch im Gange befindlicher Untersuchungen über anaërobe Keime wich ich von den bisher üblichen Methoden teilweise ab — infolge häufiger Mißerfolge mit den üblichen Methoden.

Um zu beurteilen, welche von den bisherigen Techniken der Anaërobenzüchtung die besten sind, muß man sich vergegenwärtigen, welche am meisten angewandt werden. Die anaëroben Kulturverfahren gliedern

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich je nach dem Zwecke in folgende Gruppen: 1) zur Vermehrung der Keime angelegte Kulturen; 2) zur Isolierung der Keime; 3) zur Identifizierung angelegte Kulturen; 4) solche zu biologischen Studien und sonstigen Spezialzwecken (Gasmessung u. dgl.) angelegte Kulturen.

Die am meisten verwandten Verfahren sind: 1) Die Organnährböden nach v. Hibbler und Tarozzi (1 + 2); 2) das Hochschichtverdünnungsverfahren (Schüttelkultur); 3) Verfahren 2 und Oberflächenkulturen speziell auf Traubenzucker-Blutagarplatten nach Zeißler (3 + 4); 4) Spezialmethoden. Verbesserungen sind nur dahingehend angebracht, daß man für Verfahren 1 eine Methode hat, welche wenigstens bezüglich des Sauerstoffs auf die Organnährböden verzichten kann, und diese nur unter dem Gesichtspunkte des Nährmittelangebotes benötigt (wichtig für alle biologischen Untersuchungen). Für Verfahren 2 wäre eine Verbesserung dahingehend zu wünschen, daß es ausgebaut würde, um mit ihm, dem beliebtesten, d. h. einfachsten Verfahren, möglichst viele andere Aufgaben zu lösen, eventuell auch die, die bisher nur mit Verfahren 3 möglich sind. In andere Worte gefaßt, wären die technischen Aufgaben folgende: a) eine Reagenzrohrmethode für flüssige Nährböden mit sicherem Luftabschluß, die es gestattet, auch ohne Organzusätze anaërobe Keime bequem zu züchten; b) ein Hochschichtverfahren, das möglichst die Notwendigkeit der Oberflächenzüchtung einschränkt.

Beide Verfahren müßten tunlichst bequem und besonders während der Arbeit im Laboratorium mit einem Minimum von Handgriffen zu handhaben sein.

Ad a. Die Methoden der Evakuierung, Sauerstoffabsorption, Verdrängung durch indifferente Gase usw. scheiden aus, da sie technisch nicht einfach genug sind. Es bleibt also nur eine Ueberschichtungsmethode übrig. Zur Ueberschichtung wurden bisher verwandt: Paraffin, Oel, Paraffinöl, Vaseline, Agar. Die noch in größerem Umfange verwandten Ueberschichtungsmittel sind: Paraffinöl, Vaseline und Agar. Unter diesen fällt die Wahl auf den Agar, denn das Paraffinöl ist selbst für den Geübten eine Unsauberkeiten mit sich bringende Flüssigkeit. Schon bei der Herstellung hängender Tropfen stört es; will man jedoch Ausstriche zur Färbung machen, so ist es schwierig, die benutzte Kapillarpipette von Paraffin zu befreien. Schon eine Spur auf dem Objektträger ist mit einem guten Präparate nicht zu vereinbaren. Auch vorheriges Abpipettieren des Paraffins genügt nicht zur völligen Beseitigung dieses Uebelstandes, abgesehen davon, daß dadurch das Verfahren kompliziert wird. Gegen das Paraffinöl spricht außerdem der hohe Beschaffungspreis. Zum größten Teil läßt es sich zwar wiedergewinnen, bedarf dann aber gründlicher Sterilisation und Prüfung auf Keimfreiheit. Die ölige Beschaffenheit erschwert die Reinigung jedes mit ihm in Berührung gewesenen Gegenstandes. Vornehmlich jedoch spricht gegen das Paraffinöl der unvollkommene Verschluß, den es abgibt. Stüler (4) hat nachgewiesen, daß in der Grenzschicht zwischen Oel und Glas ein Durchdringen des Sauerstoffes der Luft stattfindet, auch hat er auf den Sauerstofftransport durch das Oel selbst hingewiesen, welcher durch suspendierte Tropfen und Luft stattfinden kann. Es ist außerdem nicht zu verkennen, daß in jedem flüssigen Medium Strömungen durch die verschiedensten Einflüsse mechanischen und thermischen Ursprungs stattfinden. Mögen dieselben in dem viskosen Medium auch gering sein, so sind sie in einem erstarrten doch nicht vorhanden. Hier ist der einzige Weg durch den Agar durch Diffusion

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

möglich. Durch entsprechende Höhe der Agarschicht läßt sich, wie die Erfahrung zeigt, der diffundierende O auf Null beschränken. Einen Maßstab bildet die oberste Wachstumsgrenze im Hochschichtverfahren. Mit Sauerstoffindikatoren, Methylenblau, Diaminophenol u. dgl. (5) kann man das Eindringen in Nährböden verschiedener Zusammensetzung verfolgen. Auch wir fanden in einigen Kontrollversuchen die Ansicht von Ghon und Sachs (11) bestätigt, daß Agar dem Paraffin überlegen ist. Agar und Gelatine mit Agar zu überschichten, hat keine Schwierigkeiten; anders ist es jedoch, wenn es sich darum handelt, Flüssigkeiten zu überschichten. Der spezifisch schwerere Agar sinkt nach unten. Diese Schwierigkeit behoben obige Autoren und Rivas (6), indem sie den besäten Nährboden in einer Kältemischung erstarren ließen und im gefrorenen Zustande überschichteten. Streng macht auf die Nachteile der Methode aufmerksam. Er hält eine Beimpfung der gefrorenen Bouillon für ratsamer, damit eine eventuelle schädliche Einwirkung der Kälte zeitlich auf ein Minimum beschränkt wird. Gegen das öfters zu beobachtende nachträgliche Untersinken des Agarstopfens regt er die Benutzung der eingeschnürten Rohre nach Rivas an, der sie zur Paraffinüberschichtung benutzt hatte und durch entsprechende Füllung die Berührungsschicht in die verengte Reagenzrohrstelle legte, wodurch bei Verkleinerung der Berührungsfläche ein besserer Abschluß erzielt wird.

Ich erreichte auf folgendem Wege bequemer das gleiche Ziel: Taillenröhrchen (Fig. 1) werden bis dicht oberhalb der Verengerung mit der Nährflüssigkeit gefüllt und, mit Watte oder Zellstoffpfropfen versehen, sterilisiert. Sie sind so vorrätig haltbar. Nachdem sie mittels Kapillarpipette oder Oese beimpft sind, kann man sie mit etwas Handfertigkeit mit Agar überschichten. Jedoch empfiehlt es sich, den Agar nicht zu heiß aufzugießen, damit die Abkühlung, die er durch die Mischung mit der über der Einschnürung stehenden Flüssigkeit erfährt, genügt, um seine Viskosität beträchtlich zu erhöhen. Aus demselben Grunde gibt man zunächst nur wenig Agar und erst nach einigen Sekunden den Rest dazu. Den für die Ueberschichtung zu benutzenden Agar entnimmt man dem Wasserbade von 42°. Nach erfolgter Fertigstellung nimmt ein Kaltwasserbad die Rohre auf. Mit Vorteil läßt sich in vielen Fällen zur Ueberschichtung Diaminophenolagar verwenden, der sofort auf den ersten Blick erkennen läßt, wie weit der Sauerstoff vorgedrungen ist. Bei der scheinbaren Launenhaftigkeit, die einigen Anaërobiern eigen, ist es angebracht, bei jedem Rohre zu wissen, ob etwa das Eindringen von O als Grund des Mißerfolges anzusprechen ist.

Gute Dienste erweisen die Rohre zur Messung der in einem Kulturröhrchen gebildeten Gasmenge. Bei Gelatinekulturen in hoher Schicht ist diese Aufgabe schon durch die Ueberschichtung mit Agar gelöst. Das gebildete Gas sammelt sich unter letzterem an und je nach seiner Menge treibt es den Agar einem Stempel gleich mehr oder weniger in die Höhe. Arbeitet man also mit gleich weiten Reagenzrohren usw., so gibt die Höhe der Gasschicht für vergleichende Untersuchungen den Maßstab an. Diese Methode ist einfach und verläßlich.

Bei Agarkulturen in hoher Schicht gestattet die Zerrissenheit der Agarsäule Rückschlüsse auf die gebildete Gasmenge. Man muß jedoch die obere Grenze des Agars vor der Bebrütung markieren, um nachher die Differenz feststellen zu können. Eine Ueberschichtung der Agarsäule mit unbesätem Agar ist nicht unbedingt erforderlich, da die Anaërobier in der obersten Schicht nicht zur Entwicklung gelangen, wo-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch ein Zerreißen der letzteren durch Gasbildung nicht stattfindet, mithin auch keine Gefahr für ein Entweichen der gebildeten Gase besteht.

Bei flüssigen Kulturmedien lagen die Verhältnisse bedeutend schwieriger. Für den speziellen Zweck der Gasmessung sind verschiedene Spezialapparate, z. B. von Epstein (7), konstruiert. Bei Verwendung der oben angegebenen Methode ist gleichzeitig eine Messung der gebildeten Gase möglich, wozu am besten Rohre mit einem Fassungsvermögen von 10 ccm geeignet sind[1]). Diese sind zur Gasmessung den an Einfachheit am nächsten stehenden Gärungsröhrchen überlegen, die folgende Nachteile haben: 1) Für empfindliche Anaërobier diffundiert durch den offenen Schenkel zu viel Sauerstoff; 2) ist eine exakte Messung der gebildeten Gasmenge nicht möglich, da ein Teil der Gase durch den offenen Schenkel sich der Messung entzieht. Dieser Teil ist variabel, da mit der zunehmenden Menge von Gas im geschlossenen Schenkel mehr Nährmedium in den offenen tritt, also auch mehr Gasblasen in den offenen Schenkel steigen und entweichen. Nicht nur die absolute Menge der Gasbildung läßt sich nicht bestimmen, sondern auch für vergleichende Versuche ergibt die Ueberlegung, daß die Verhältniszahlen, welche man erhält, ihrer Größe nach nicht stimmen. Die Gärungsröhrchen sind nur zuverlässig, wenn man ein Plus oder Minus von Gasbildung vergleichend feststellen will. Für genaue Messung wäre natürlich auch die Ueberschichtungsmethode nicht ohne weiteres geeignet. Für den Fall, daß makroskopisch keine Gasbildung sichtbar ist, und man vermutet, daß der Grund darin liegt, daß die Menge der gebildeten Gase nicht den Sättigungsgehalt des Nährmediums erreicht hat, kann man das Gas durch Evakuierung unter dem Agarstempel sammeln. (Langsam evakuieren, langes Reagenzglas benutzen und vor der Ueberschichtung alle absorbierten Gase durch Kochen oder Evakuierung entfernen.) Hat man unter ein und demselben Rezipienten evakuiert, so kann man die Ablesungen verwerten.

Schon bei den Gärungsröhrchen werden ihre Vorteile durch unbequeme und zeitraubende Reinigungsmöglichkeit ausgeglichen, was auch bei den Taillenröhrchen der Fall ist. In diesem Umstande ist überhaupt der Nachteil des neuen Verfahrens zu erblicken. Es ist daher wohl angebracht, darauf hinzuweisen, daß sich auf folgendem Wege die Röhrchen spielend leicht reinigen lassen: An eine Saugflasche mit doppelt durchbohrtem Korke wird an das lange rechtwinkelig gebogene Rohr mittels Gummischlauchs eine Kapillarpipette angeschlossen, während an das entsprechende kurzschenkelige Rohr die Wasserstrahlpumpe angeschlossen wird. Um die Reinigung jedoch nach alten Grundsätzen ausführen zu können, kann man die lichte Weite der Verengerung größer wählen, und durch eine Glasperle oder Kugel verschließen. Diese ändert die Handhabung des Rohres nicht, da sie bei der Beimpfung ausweicht und von selbst wieder auf die Oeffnung rollt. Bei dieser Verschlußform, die auch die Zirkulation von Flüssigkeiten sehr erschwert, kann in manchen Fällen auch die Agarüberschichtung fortfallen. Dann füllt man das Rohr von Anfang an einige Zentimeter über die Glasperle reichend voll. Da mit dem Größerwerden des Verengerungsdurchmessers auch die Größe der Berührungsrandzone wächst, wird sicher ein besseres Eindringen der Luft gestattet, als bei dem engen Durchmesser. In praktischer Beziehung ist hierin jedoch kein Nachteil zu erblicken.

---

1) Bei F. & M. Lautenschläger-Berlin erhältlich.

Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Fig. 1 zeigt ein Kugelrohr im Querschnitt. Denkt man sich die Kugel weg und die Taille etwas enger, so hat man das Bild des gewöhnlichen, leicht zu überschichtenden Rohres. Wie die Ueberschichtung ohne Kugel zu bewerkstelligen ist, wurde bereits ausgeführt. Jedoch bedarf das Rohr mit Kugel noch einiger spezieller Anwendungs- resp. Herstellungsregeln:

Das Kugeltaillenrohr kann auf zwei Arten benutzt werden.

1. Ohne Agarüberschichtung: Es gelangt dann, wenn auch nicht immer eine störende Menge, so doch Sauerstoff in die Tiefe. Die Menge des O ist abhängig von der Größe der Grenzzone, steigt also mit der Größe der Taillenöffnung. Beimpfung und Abimpfung des Rohres läßt sich immer leicht bewerkstelligen, wenn man, worauf bereits hingewiesen, das Rohr neigt. Eine Messung einer ev. gebildeten Gasmenge ist nicht möglich.

2. Mit Agarüberschichtung: Es gelangt kein O in die Tiefe. Gasmessung ist möglich. — Jedoch ist die Perle nicht durch Neigen von der Oeffnung zu entfernen. Dies gelingt aber durch die Kapillarpipette oder die Platinnadel, wenn man richtig konstruierte Rohre verwendet. Richtig konstruiert, sind die Rohre, bei denen der Bläser nicht eine lang ausgezogene, sondern eine wenigstens im oberen Teile bauchige Einschnürung geschaffen hat. Den Einfluß dieser verschiedenen Blasart demonstrieren die Fig. 2 u. 3. Fig. 2 stellt die mechanischen Verhältnisse beim Abimpfen aus einem langgezogenen Rohre dar. *CD* ist die Auflageebene der Kugel, welche die Kugel innerhalb der Papierebene in *A* und *B* schneidet. *TB* ist die Tangente an die Glaswand

Fig. 1.

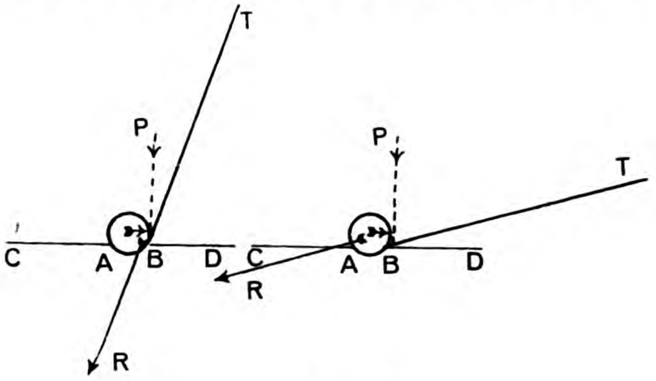


Fig. 2. Fig. 3.

in dem Punkte, wo die eingeführte Pipette dieselbe berühren möge. Richtung und Kraft der eingeführten Pipette sind durch den Pfeil *TB* dargestellt, welcher die Kugel im Punkte des kleinen Pfeiles berührt. Die auf die Kugel unter diesen Voraussetzungen resultierenden Kräfte sind ihrer Richtung nach durch den Pfeil *BR* bestimmt, welcher aus der Konstruktion des Kräfteparallelogramms hergeleitet wird. Man sieht, daß im Falle der Fig. 2 durch die Steilheit der Glaswand die Resultierende zwischen den Auflagepunkten *A* und *B* hindurchgeht, während sie in Fig. 3 an denselben vorbei geht. Bei einfacher Stoßbewegung der Pipette wird als im Fall der Fig. 2 die Kugel immer fester auf die Unterlage gepreßt, während sie im Fall der Fig. 3 nach der Seite abgleiten muß. Bei richtig geformten Rohren kann man also die Pipette so einführen, als ob überhaupt eine Kugel nicht vorhanden ist. — Des weiteren sei darauf hingewiesen, daß die Glaskugel oder Perle nur so groß gewählt werden darf, daß die Pipette neben derselben durch die Enge vorbeigeführt werden kann.

Wenn auf die zuletzt erörterten Konstruktionsverhältnisse Rücksicht genommen worden ist, so hindert die Glaskugel auch bei der Agarüberschichtung nicht. Ueber die Sauerstoffverteilung ergaben Orientierungsversuche mit den Röhrchen das Bild der folgenden Tabelle (S. 335).

Die Farbenskala des Indikators geht vom hellsten durchsichtigen Rosa bis zu undurchsichtigem Schwarzbraun. Hierbei werden der Reihenfolge nach erst mehr zinnoberrote Töne durchlaufen, dann burgunder- und purpurfarbene; diese gewinnen an Deckkraft bis zur Undurchsichtigkeit, wobei gleichzeitig ein braunschwarzer Farbenton immer mehr in den Vordergrund rückt.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Indikator: Diaminophenol [Amidol[1])] 0,1 Proz. in Aq. dest.
Ablesung: Nach 24 Std.

Weite der Enge in mm	ohne Perle				mit Perle			
gefüllt bis	zur Enge	1 cm über Enge	überschichtet mit 1 cm Agar	überschichtet mit 2 cm Agar	zur Perle	1 cm über Perle	überschichtet mit 1 cm Agar	überschichtet mit 2 cm Agar
ca. 1 mm	rot	rot (übergeh. schwarzbraun)	Sp. rosa	Sp. rosa	hellrot	rosarot	Spur rosa	
ca. 2 mm	dunkelrot	dklrot. (übergeh. schwarzbraun)	dgl.	dgl.	„ +	„ +	dgl.	
ca. 3—4 mm	dklbraun. undurchs.	dkl.-braun (übergeh. schwarzbraun)	„	„	„ ++	„ +	„	

Ad b. Zu dieser Forderung wäre zurzeit zu bemerken, daß die Aussichten für ein erfolgreiches Arbeiten in dieser Richtung nicht sehr groß einzuschätzen sind. Es ist eine wenig hervorgehobene, aber dennoch nicht zu vergessende Tatsache, daß die Oberflächenkolonien einen bedeutend größeren Formenreichtum aufweisen als die Tiefenkolonien. Dies bedingt eine leichtere Differenzierungsmöglichkeit bei Oberflächenwachstum. Jedoch stehen bei Versagen der Kolonieform als Unterscheidungsmerkmal noch biologische Möglichkeiten zur Verfügung, wobei man an Analoga der bunten Reihe bei Typhus und Ruhr denken kann. Andererseits ist nicht zu vergessen, daß alle Oberflächenzüchtungen in direktem Gegensatz zu den im Körper vorhandenen Bedingungen stehen. Hier gedeiht der Keim in einem mehr oder minder kolloidalen-viskosen Medium; dort gedeiht er in einer Grenzschicht zwischen einem solchen und einem Gase. Also physikalisch völlig different. Nirgends im Körper wird dem Mikroorganismus freie Atmosphäre angeboten, stets bei der aëroben Oberflächenkultur. Wenn also die Differenzierung auch leichter durch die Oberflächenkultur zu erreichen ist, so stellt sie doch biologisch den Keim in eine sehr artifizielle Umgebung. Wie hier vielleicht vorwärts zu kommen ist, habe ich in meiner Arbeit über Sauerstoffindikatoren bereits angedeutet.

Außer diesen biologischen Punkten ist zu bedenken, daß in technischer Hinsicht die Isolierung der Keime und die Gewinnung von Einzelkolonien mittels der Oberflächenkulturmethoden an der Schwierigkeit der Dichthaltung des Züchtungsgefäßes gegen die umgebende Luft krankt. Selbst bei Lösung dieser Aufgabe — uns gelang es weder mit dem Botkinschen noch mit dem Maaßenschen Apparate — in 100 Proz. eine völlige Dichtung zu erzielen — erfordert das Pyrogallod beträchtliche Ausgaben. Die von Wilson G. Smellie angegebene Methode erfordert beträchtliches Anlagekapital, da Platin als Katalysator erforderlich ist.

Besser in bezug auf die technische Seite, daher wohl auch am meisten angewandt, ist die Kultur in Agarhochschichtröhren und Isolierung durch Anlage von Verdünnungsröhrchen. Ihr Nachteil besteht darin, daß schon beim Vorhandensein weniger Kolonien die Abimpfung Schwierigkeiten machen kann. Ferner kommt es leicht vor, daß in dem Preßwasser zwischen Hals und Agar eine Kolonie durchgebrochen ist. Wie man nun auch den Agarzylinder aus dem Rohre entferne, sei es durch Sprengung des Glases oder durch Herausgleitenlassen, während man den unteren Teil erhitzt, so werden immer die Keime im Preß-

1) Erhältlich bei Grübler, Leipzig.

Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

wasser über die ganze Oberfläche des Zylinders verschleppt und können das Gewinnen einer Reinkultur vereiteln. Aus diesen und anderen Gründen gingen wir von der Form des Reagenzglases ab und vergrößerten die eine Dimension auf Kosten der andern. Analoge Richtungen verfolgten Streng (8), Kamen (9), van Senus (10) u. a. Wir gingen daher zur Züchtung in Spalten zwischen 2 Glasscheiben über, und versuchten die Vorteile dienstbar zu machen, die Spalte verschiedener Dicke bieten. Zunächst ist die Wahrscheinlichkeit gegeben, daß man durch die Formveränderung den Abstand der Keime voneinander vergrößert und dadurch event. erst die Möglichkeit schafft, abimpfen zu können; z. B. angenommen, man hat in einem Hochschichtrohre eine Verdünnung vor sich, in welcher 125 Keime im Kubikzentimeter sein mögen. Dieselben würden dann den durchschnittlichen Abstand von 2 mm haben. Dieser Abstand würde nach der Bebrütung ein Rohr ergeben, von welchem es nicht möglich sein würde, rein abzuimpfen. Wenn man jedoch diesen besäten Agar mit 125 Keimen im Kubikzentimeter, also mit 1 Keim in je 8 cmm, zwischen 2 Glasplatten ausgießt, deren Abstand (z. B. durch Deckgläser) 0,2 mm ist, so würden diese 8 ccm eine Glasfläche von 40 qmm bedecken, mithin wäre der Abstand ca. 6,5 mm. Da nun aber die ganze Schicht nur 0,2 mm dick ist, so befinden sich praktisch keine Kolonien in dieser Dimension nebeneinander. Daher resultiert, daß man schon bei einer solchen Verdünnung zu einer Reinkulturabimpfung gelangen kann. Zwar haftet der dünnen Schicht auch die Notwendigkeit an, daß eine große Anzahl von Kolonien in die Grenzschicht durchbricht. Da jedoch die Glasplatten senkrecht voneinander entfernt werden können, findet keine derartige Verschleppung der Keime statt, wie wenn der Agarzylinder aus dem Rohre herausgleitet. Die Spaltkulturen lassen sich sehr bequem und genau unter der Lupe und unter dem Mikroskope betrachten. Die Kulturmedien erscheinen in dieser Dicke fast völlig klar, und selbst glasige Kolonien heben sich sehr gut ab. Man sieht bei schwacher Vergrößerung bereits deutlich, welche Kolonien bis in den Grenzspalt vorgedrungen sind, und kann sich auch nach dem Abheben der Deckplatte grob über die Ausdehnung orientieren, in welcher die Keime event. verstreut worden sind. Die bequeme und genaue Betrachtungsmöglichkeit gestattet auch schon nach kürzerer Bebrütungszeit ein Abimpfen. Mit dieser Zeitersparnis verbindet man, daß, je früher man abimpft, um so kleiner also die Kolonien noch sind, um so weniger Kolonien in den Grenzspalt durchgebrochen sein werden. Daß sich die Methode gut zu demonstrativen Zwecken und zum Studium der hämolytischen Eigenschaften der Erreger eignet, sei hier noch erwähnt.

Sobald sich die Spaltdicke Bruchteilen von Millimetern nähert, beginnen sich die mechanischen Verhältnisse für das Wachstum der Bazillen derart zu ändern, daß die Kolonieform beträchtlich beeinflußt werden kann. Wir fanden z. B. bei dem Fränkelschen Bazillus ein völliges Abweichen von der glattrandigen Form. Es bildeten sich ausgefaserte, mit Fortsätzen versehene Kolonien. Auch Kolonien, welche die Grenzspalten nicht erreicht hatten, wichen in dieser Art ab. Diese Kolonien sind noch allseitig von Agar umgeben. Die Erklärung dafür, daß sie doch verändert wachsen, ist vielleicht darin zu suchen, daß der Gleichgewichtszustand zwischen den Kohäsions- und Adhäsionskräften die Agarbeschaffenheit verändert hat. Bei einem Spalt kapillarer Dimension haben wir es praktisch aber nur mit solchen Randzonen mit veränderter

Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Agarbeschaffenheit zu tun. Vielleicht gibt es Keime, welche auf anderen Wegen nur schwer voneinander zu unterscheiden sind, welche aber im Kapillarspalt ihre Differenzen deutlich zu erkennen geben.

Geht man mit der Spaltdicke nicht unter 2 mm herunter, so haben wir immer dieselbe Kolonieform beobachten können wie in den Hochschichtröhrchen. Die Platte, die in dankenswerter Weise von der Firma Lautenschläger sorgfältig hergestellt wird, zeigt die Fig. 4. Die Dimensionen des Spaltes sind ca. 3 : 50 : 100 mm. Es sind flache, flaschenförmige Gebilde, deren eine Hälfte als Deckel ausgebildet ist. Eine Klammer hält eventuell den Deckel fest. Der oben befindliche Tubus wird mit Watte ausgestopft und in dieser Aufmachung werden die Platten steril vorrätig gehalten. Die Gefäße werden beschickt, indem man nach Entfernung des Stopfens unter üblichen Kautelen den besäten Agar eingießt. Darauf überschichtet man mit unbesätem Agar. Die Ueberschichtung ist für gewöhnlich nicht erforderlich, da die Luft in dem engen Spalt noch schlechter zirkulieren kann, als in einem Reagenzrohre. Das Wachstum der Anaërobier beginnt eher dichter unter der Oberfläche. Will man jedoch Keimzählungen vornehmen, so überschichtet man reichlich, um alle Keime zur Entwicklung gelangen zu lassen. Auch bei dieser Platte kann man mit verschiedenen Verdünnungen arbeiten. Sind die Verdünnungen zu dicht geraten, so ist es empfehlenswert, nach kurzer Bebrütungszeit zu zählen. Man braucht nicht alle Kolonien durchzuzählen, sondern wird sich mit einem Ausschnitt begnügen und überhaupt möglichst analog vorgehen wie bei den Oberflächenkulturen der Aërobier. Hat man zur Zählung oder Abimpfung eine Platte, welche sehr spärlich besät ist, so kann man sich das Durchmustern unter der Lupe oder dem Mikroskop erheblich erleichtern, wenn man dem Agar 0,1 Proz. indigsulfosaures Natron zusetzt, welches in der Umgebung der Kolonien reduziert wird und den Blick sofort auf die Kolonien lenkt. Die Abimpfung von der Platte haben wir folgendermaßen gehandhabt: Die Deckplatte wird ziehend abgehoben, nachdem die abzuimpfenden Kolonien beiderseitig mit Fettstift markiert sind. Mit einer Kapillare von ca. 2 mm lichter Weite wird senkrecht auf die Kolonie zugestochen, so daß sie größtenteils in dem damit ausgestochenen Agarzylinder sich befindet. Die Kolonie genau zentral zu fassen, empfehlen wir nicht, da wir einmal beobachtet haben, daß wir sie allseitig von Agar umgeben gefaßt hatten. Ließen wir nun den kleinen Agarzylinder in ein Hirnbreirohr, so hatten wir erst nach einigen Tagen ein Wachstum konstatieren können, da zuerst die Kolonie in dem Agarzylinder so weit an Umfang zunehmen mußte, daß sie in den Hirnbrei vordrang. Es ist also ratsam, die Kolonie gleich beim Anstechen zu verletzen, da ein späteres Zerdrücken des kleinen Zylinders schwierig ist. Den kleinen Agarzylinder kann man in die Kapillare hinaufsaugen, unter der Lupe die in ihm befindliche Kolonie

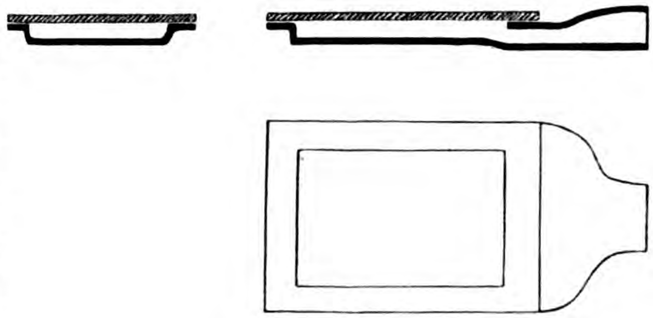


Fig. 4.

Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

noch genau auf ihre Identität mit der gewollten prüfen, kann sie sofort überimpfen, kann auch durch beiderseitiges Abschmelzen der Kapillare sich die Einzelkolonie aufheben. Sowie uns die Platten in größerer Anzahl zur Verfügung stehen, werden wir dieselben verschiedenen anderen Verfahren bei unseren Versuchen parallel laufen lassen.

Auch diese Platten beschickten wir mit Indikatorenagar. Es zeigt sich dann, daß die Luft von der freien Fläche ebenso in die Tiefe diffundiert wie bei dem gewöhnlichen Hochschichtverfahren. In den kapillaren Spalt dringt der Agar nur einige Millimeter ein; der Rest des Spaltes wird dann zum Teil noch von Kondenzwasser angefüllt. In dem Spalt zeigt der Indikator, daß der Luftsauerstoff nur wenige Millimeter eindringt und die eigentliche Platte überhaupt nicht erreicht.

Zusammenfassung.

1) Der Agarüberschichtung wird gegenüber anderen Ueberschichtungsmitteln der Vorzug gegeben, und es wird eine Methode angegeben, mit welcher die Ueberschichtung flüssiger Medien gelingt. Taillenrohre mit enger Oeffnung gestatten die Ueberschichtung ohne weiteres, bei größerer Oeffnung werden zum Abschlusse Glasperlen oder Kugeln benutzt[1]).

2) Durch Züchtung der Anaërobier in den näher beschriebenen spaltförmigen Gefäßen läßt sich ein Teil der Bequemlichkeiten des Hochschichtverfahrens mit einigen Vorteilen der Oberflächenkultur vereinigen.

Literatur.

1) Tarozzi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 38. S. 619. — 2) Zeißler, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. S. 552. — 3) Derselbe, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1507; ebenda 1918. S. 942. — 4) Stüler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 37. S. 299. — 5) Kadisch, ebenda Bd. 90. S. 462. — 6) Rivas, ebenda Bd. 32. S. 831. — 7) Epstein, ebenda Bd. 24. S. 266. — 8) Streng, ebenda Bd. 34. S. 598. — 9) Kamen, ebenda Bd. 35. S. 560. — 10) v. Senus, ebenda Bd. 12. S. 144. — 11) Ghon u. Sachs, ebenda Bd. 32. S. 403.

Nachdruck verboten.

Zur Technik der Anaërobenzüchtung. I.

Verwertung des Pyrogallol-Vakuumprinzips für Einzelplattenkulturen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock (Direktor: Prof. Dr. v. Wasielewski).]

Von Stabsarzt Dr. **Brekenfeld,** kdt. zum Institut.

Mit 1 Abbildung im Text.

Gelegentlich der Prüfung des von der „Fabrik für Metallwaren" in Schwarzenberg Sa. zur Verfügung gestellten Saxonia-Schnellkonservierungsapparates auf seine Brauchbarkeit entstand die Frage, ob sich dieser Apparat für die Anaërobenzüchtung verwerten lasse. Der Saxoniaapparat

1) Nach Fertigstellung der Arbeit erfahre ich durch das Sammelreferat von Knorr (Zeitschr. f. d. ges. Hyg. 1923. S. 83), daß ein Teil des Absatzes über Taillenrohre, soweit er sich auf die Verwendung von Glaskugeln bezieht, bereits von Hall (Journ. of infect. dis. Vol. 29. p. 317) angeregt ist.

Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ist eine am Tische zu befestigende Saugpumpe, an welche ein Druckschlauch geschraubt ist, der in ein flaches Metallstück (Saugdüse) mündet. Zum Evakuieren eines Weckglases legt man zwischen Deckel und Gefäß 2 Gummiringe, führt zwischen diese hindurch die Saugdüse und pumpt, bis das Zurückschlagen des Kolbens ein gewisses Vakuum anzeigt.

Die Versuche mit dieser Handsaugpumpe ergaben bei längerem Gebrauch, daß durch Undichtigkeit des Stempels und Konstruktionsnachteile ein für Anaërobenzüchtung ausreichendes Vakuum nicht erzielt werden konnte. Versuche, die Saxoniasaugpumpe durch die Wasserstrahlpumpe zu ersetzen unter Beibehaltung des Druckschlauches mit Saugdüse und des Prinzipes der 2 Gummiringe zeitigten ein besseres Ergebnis. Für die Anaërobenzüchtung erwies sich folgende Versuchsanordnung als zweckmäßig:

Zum Ausgießen des Nährbodens wird eine Glasschale von 7½ cm Durchmesser, 3 cm Höhe und etwa 3 mm Glasstärke benutzt. Es genügen 10 ccm Nährboden für diese Schale. Nach Beimpfung mit dem Untersuchungsmaterial und Anfetten des Glasrandes durch Aufsetzen auf eine mit gelbem Vaselin bestrichene Glasplatte wird diese Schale umgekehrt auf 2 gleiche, genau aufeinander liegende Gummiringe (nach Weck; innerer Durchmesser ca. 6 cm, äußerer, größter ca. 8½ cm) gesetzt, die ihrerseits einer runden Glasscheibe von ca. 9 cm Durchmesser und mindestens 3 mm Dicke so aufliegen, daß die breiteste Stelle der Gummiringe bequem zum Anfassen (beim Oeffnen) über die Glasscheibe hinausragt. In der Mitte der Glasscheibe, befindet sich ein Glasschälchen von 3½ bis 4 cm Durchm. und 1—1½ cm Höhe mit etwa 0,1 g Pyrogallol, das mit einer dünnen Watteschicht bedeckt ist (s. Fig. 1).

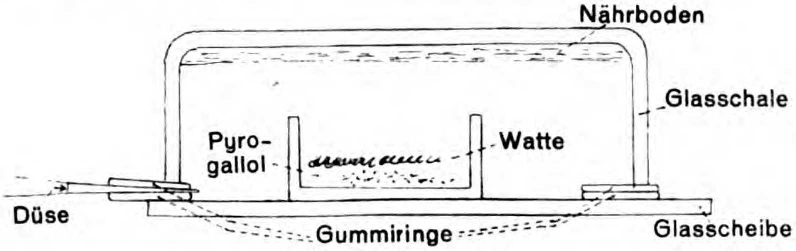


Fig. 1.

Diese Watte verzögert zunächst die Vereinigung von Pyrogallol und Kalilauge und verhindert späterhin beim Oeffnen der Schale ein Bespritzen des Nährbodens mit alkalischer Pyrogallollösung. Kurz vor dem Evakuieren werden auf die Watte 1—2 ccm 20 proz. Kalilauge geträufelt, die sich allmählich mit dem untenliegenden Pyrogallol verbindet. Zum Zwecke des Evakuierens wird der etwa 30 cm lange Saxoniaschlauch nach Einschaltung einer Wulffschen- oder gewöhnlichen Waschflasche und eines Vakuummeters mit der Wasserstrahlpumpe verbunden und die äußerst flache Saxoniasaugdüse so zwischen die 2 Gummiringe an deren breitester Stelle geschoben, daß sie soeben im Inneren hervorsieht und beim Evakuieren möglichst am flachesten Ende von dem Glasrande der Kulturschale zwischen oberem und unterem Gummiring festgedrückt wird (s. Fig. 1). Preßt man die Kulturschale 1 Sek. während des ersten Ansaugens fest auf die Unterlage, so haftet sie alsdann infolge des bereits eingetretenen Vakuums von selbst. In wenigen Sekunden kann man so im Kulturschälchen ein Vakuum von erheblicher

Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Größe erhalten; es genügt im allgemeinen ein solches von 50—150 mm. Steigerung des Vakuums unter 50 mm begünstigt Loslösung der Nährbodenschicht, worauf auch Zeißler in Bd. 2 Hdb. der mikrobiol. Technik Krauss-Uhlenhuth hingewiesen hat. Zeigt das Vakuummeter die erwünschte Luftleere an, so drückt man oberhalb der Düse kräftig auf die Kulturschale und zieht seitwärts hebelnd die Düse schnell heraus[1]).

Die mit dieser Methode gesammelten Erfahrungen sind noch zu gering, um ein endgültiges Urteil zuzulassen. Das gute Wachstum auf Traubenzucker-Blutagarplatten von frischen Stämmen Putrif. verrucos. und Botulinus, bezogen von Zeißler-Altona, sowie von einem Putrif. verrucos., gezüchtet aus faulen Anschovis, ermutigen aber, die Versuche fortzusetzen.

Gegenüber dem kombinierten Pyrogallol-Vakuumverfahren im Exsikkator liegen die Vorteile dieser Einzelplattenmethode einmal in der Ersparnis an Pyrogallol, Kalilauge und Platz im Brutschrank, dann aber aber auch in der Möglichkeit, jede Einzelplatte auf das Wachstum von Kolonien hin prüfen zu können, ohne auf den Sauerstoffabschluß verzichten zu müssen, ähnlich wie bei den Lentzschen und Küsterschen Schalen. Bei diesen ist jedoch die Herstellung einer Luftverdünnung neben der Entfernung des Sauerstoffes durch alkalisches Pyrogallol nicht möglich. Ferner ist die Gummiabdichtung sauberer, zuverlässiger und auf die Dauer billiger als die mit den verschiedenen Fettarten oder mit Plastilin. Da das Vorbereiten, Beimpfen und Evakuieren wenig Zeit in Anspruch nimmt, ist ein Herstellen auch von Plattenserien mit dem oben angegebenen Verfahren kaum zeitraubender als das Arbeiten mit einem Exsikkator.

Wegen der Vorteile gegenüber den bisher gebräuchlichen Methoden wäre es erwünscht, wenn das Verfahren in größerem Umfange auch in anderen Laboratorien auf seine Brauchbarkeit geprüft werden würde.

Nachdruck verboten.

Zur Technik der Anaërobenzüchtung. II.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock (Direktor: Prof. Dr. v. Wasielewski).]

Von **Otto Kirchner.**

Für die völlige oder annähende Entfernung freien Luftsauerstoffs sind zahlreiche Verfahren angegeben, die kürzlich von Zeißler im Kapitel über Anaërobenzüchtung im „Handbuch der mikrobiologischen Technik“ von Krauß und Uhlenhuth, Bd. 2. 1923 zusammengestellt wurden. Unter diesen hat sich das von Emmerling zuerst im Prinzip angegebene und von Zeißler bei seinen Untersuchungen zur Herstellung anaërober Verhältnisse angewandte Pyrogallol-Vakuumverfahren als besonders brauchbar bewährt. Nach Luftverdünnung durch Auspumpen eines Exsikkators, in welchem die Kulturschalen und -röhrchen untergebracht sind, wird der Rest des Luftsauerstoffs durch Pyrogallol-Kalilauge absorbiert; durch das vorangehende Evakuieren auf 20—10 mm

1) Daß das Vakuum sich beim Herausziehen der Düse und in der Folge nicht ändert, kann durch ein kleines, von Kirchner im selben Heft beschriebenes, selbst angefertigtes Vakuummeter leicht nachgeprüft werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hg wird der Pyrogallolverbrauch außerordentlich herabgesetzt und die restlose Beseitigung des Sauerstoffs beschleunigt.

Bei Untersuchungen über Anaërobiose, die mit Unterstützung der Rockefeller-Stiftung im Gange sind, wurde zunächst die von Zeißler angewandte Apparatur verwendet. Die allgemeine Einführung dieser Apparate wird jedoch erschwert durch die Größe des mit kuppelförmigem Aufsatz versehenen Exsikkators und die bisherige Art der Abdichtung durch Fettwachsgemische. Um den Abschluß auch bei Brutwärme dauernd luftdicht zu erhalten, muß eine ganz bestimmte Konsistenz des Fettwachsgemisches, der Brutschranktemperatur entsprechend, innegehalten werden; andererseits erhärtet ein dieser Anforderung entsprechendes Fettwachsgemisch bei Zimmertemperatur rasch so weit, daß die Anlegung des Abschlusses Mühe macht. Als geeignet empfahl A. Meyer 1905 ein Gemisch von Karnaubawachs mit Lanolin, Zeißler neuerdings ein Gemisch von Rindertalg, gelber Vaseline und Toluol zu gleichen Teilen, das im Brutschrank aufzubewahren ist. Es ergeben sich in jedem Fall bei der Fettwachsabdichtung für den Ungeübten mannigfache Schwierigkeiten, und auch bei ganz sorgsamer Ausführung der umständlichen Manipulationen ist es nicht sicher zu vermeiden, daß der Verschluß, sobald der Exsikkator in den Brutschrank gebracht ist, an irgendeiner Stelle nachgibt und Luft eindringen läßt.

Leichter gelingt eine Abdichtung durch Gummiringe, die sich als unbedingt zuverlässig, sauber und rasch herstellbar bewährt hat. Die Anregung zu dem Versuch einer Gummiabdichtung gab ein anaërobes Plattenverfahren mit Gummiabschluß, über welches Herr Stabsarzt Brekenfeld im gleichen Heft berichtet hat. Zur Abdichtung des Exsikkators bedurfte der Gummiabschluß jedoch einer Abänderung bzw. Ergänzung. Während die Plattenränder durch den Luftdruck genügend tief in die Gummiringe gepreßt werden, geben Gummiringe, für sich allein zwischen die plangeschliffenen Flächen eines Exsikkators gelegt, keinen luftdichten Abschluß; bringt man aber, um die fehlende Kante zu ersetzen, zwischen die ca. $1^1/_2$ cm breiten, den Schliffflächen des Exsikkators entsprechenden Gummiringe einen doppelten Ring aus elastischem, am besten nicht rostenden Draht von 1,2 mm Dicke, so wird dieser Ring mit zunehmender Luftverdünnung durch den äußeren Luftdruck immer mehr in den Gummi eingepreßt und eine zuverlässige, vom Temperaturwechsel unabhängige doppelte lineare Abdichtung erzielt. Diese Gummiabdichtung bedeutet auch eine Vereinfachung insofern, als die Schliffflächen des Exsikkators nicht so genau aufeinander zu passen brauchen, wie es bei der Fettwachsabdichtung nötig ist.

Die Notwendigkeit, den vorhandenen Brutschrankraum möglichst auszunutzen, ließ uns von dem von Zeißler verwandten Maaßenschen Exsikkator wegen seiner Größe absehen. Dieser ist einerseits bei seiner Höhe von 53 cm nur in besonders hohen Brutschränken überhaupt unterzubringen; andererseits ist seine lichte Weite von 16 cm zu klein, um darin mehr als eine Säule — 12 Stück — von Petri-Schalen unterzubringen; auch kleinere Schalen von 7 cm Durchmesser, die für viele experimentelle Zwecke ausreichen, finden nur in einer Säule darin Platz. 4 Maaßensche Exsikkatoren mit höchstens 50 Platten beanspruchen also einen ganzen Brutschrank von mindestens 55 cm lichter Höhe, 42 cm Breite und 42 cm Tiefe für sich. Sehr viel raumsparender sind zylindrische Exsikkatoren mit flachem, mit Tubus versehenem Deckel und einer lichten Weite von ca. 18 cm, die erlaubt,

Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

3 Säulen von Platten von 7 cm Durchmesser im Exsikkatorgefäß unterzubringen oder aber zylindrische Vakuumgefäße nach A. Meyer (Ctbl. f. Bakt. Abt. II Bd. 16. S. 386) von ca. 15 cm lichter Weite, in welchen eine Säule von Platten, also 5—6, Platz finden. Diese Anordnung nutzt den Raum möglichst aus. Der Wegfall des großen Glockenraumes, überhaupt die Reduzierung des toten Raumes bietet zudem den weiteren Vorteil, daß das Auspumpen mit der Wasserstrahlpumpe statt 30 Min. nur 10—15 Min. beansprucht. Die von uns augenblicklich verwandten Exsikkatorengefäße haben — ohne Deckel — eine Höhe von 20 cm, so daß wir im selben Brutschrank, der mit 4 Maaßenschen Exsikkatoren, insgesamt 50 Platten, voll besetzt ist, 8 Exsikkatoren mit ca. 120 kleinen Platten von 7 cm Durchmesser unterbringen könnten.

Der Verzicht auf die Glocke des Maaßenschen Exsikkators machte eine anderweitige Unterbringung der Pyrogallol-Kalilauge notwendig. Wir gehen so vor, daß wir auf den Boden des Exsikkatorgefäßes eine 3—4 cm hohe Glasschale bringen, deren Durchmesser 8—12 cm beträgt, je nach der Weite des Exsikkators. Diese Schale dient zur Aufnahme von 30—80 ccm 50 proz. Kalilauge; Papptellerchen von entsprechender Größe enthalten 2—5 g Pyrogallol, und werden auf die Kalilauge gesetzt. Es vergeht zirka $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde, bis die Kalilauge das Papptellerchen so weit angegriffen hat, daß Pyrogallol und Kalilauge in Berührung kommen und die Sauerstoffabsorption einsetzt. Diese Anordnung ist ebenso zuverlässig wie die in der Glocke des Maaßenschen Exsikkators und hat dieser gegenüber den Vorteil der Handlichkeit voraus. Die Kalilaugenschale steht unter einem wenig höheren Dreifuß; auf diesen kommt das Gestell mit den Kulturschalen bzw. ein Drahtkorb mit den Kulturröhrchen. Zum Schutz der Nährböden gegen Austrocknung werden auf den Boden des Exsikkatorgefäßes zirka 75 ccm Wasser gebracht, in dem die Kalilaugenschale steht. Außerdem wird bei Platten der Dreifuß zunächst mit einer Lage angefeuchteten Zellstoffs bedeckt, da auf diese Weise erfahrungsgemäß die untersten Platten vor stärkerer Austrocknung geschützt werden, der sie sonst ausgesetzt sind.

Zur Kontrolle, ob der Abschluß während der Dauer des Versuches vollkommen luftdicht bleibt, lassen wir ein auf einfache Weise herzustellendes Manometerröhrchen mitgehen: man zieht eine Glaskapillare von 10 cm Länge und zirka 1 mm lichter Weite aus, bringt eine Quecksilbersäule von 2—3 mm Länge hinein und schmilzt das eine Ende so zu, daß von dem Quecksilber eine 2—3 mm lange Luftsäule abgeschlossen wird. Die Kapillare wird dann auf einem gewöhnlichen Holzspatel, den man mit Millimeterteilung versehen hat, so befestigt, daß das zugeschmolzene Ende als unteres auf den Nullpunkt kommt. Das Aichen geschieht am besten so, daß man die fertigen Manometerröhrchen numeriert in einen kleinen Exsikkator bringt, zusammen mit einem gebräuchlichen Quecksilbermanometer, evakuiert und auf einer Tabelle einträgt, welcher Stand bei den einzelnen Röhrchen den am Quecksilbermanometer abgelesenen Drucken von 80, 75, 70 usw. bis zu 20 mm entspricht. Die Ausschläge sind für die in Betracht kommenden niedrigen Drucke groß, so daß die Manometer für ihren Zweck vollkommen genügen.

Die Vorteile dieser Versuchsanordnung erblicke ich in den folgenden Punkten:

1) Die Abdichtung mit Gummiringen ist sauber und rasch her-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zustellen, von der Temperatur unabhängig, und unbedingt zuverlässig; diese Zuverlässigkeit ist durch ein eingeschlossenes Manometer kontrolliert, das beliebig lange seinen Stand unverändert behält. Dem steht bei der Fettwachsabdichtung gegenüber das unsaubere Arbeiten, die Umständlichkeit der Herstellung und der Anlegung des Verschlusses; trotzdem ein gewisses Maß von Unzuverlässigkeit, die Gefahr, daß der Verschluß nachträglich undicht und damit die Wiederholung der ganzen Arbeit notwendig wird. Außerdem ist auch die Materialersparnis zu berücksichtigen. — 2) Der verfügbare Brutschrankraum wird besser ausgenutzt als bei Verwendung des Maaßenschen Exsikkators. — 3) Die Anordnung von Pyrogallol-Kalilauge ist einfacher und handlicher, besonders auch die Reinigung nach beendetem Gebrauch.

Zum Schluß sei es mir gestattet, dem Hilfsausschuß der Rockefeller-Stiftung für die Unterstützung, welche die Ausführung der Arbeiten ermöglicht, meinen ergebensten Dank zu sagen.

Nachdruck verboten.

Zur Praxis der Giemsa-Färbung.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg (Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von Prof. **G. Giemsa.**

Verschiedentlich hat man die Wahrnehmung gemacht, daß die von mir angegebene Färbemethode zur Erzeugung des Romanowsky-Effektes nicht immer zum Ziele führt. Auch manche in der Literatur erschienenen Abbildungen von Giemsa-Präparaten weisen bläuliche, an Stelle leuchtend rotvioletter Kernfärbungen auf und lassen somit erkennen, daß die ihnen zugrunde liegenden Präparate atypisch gefärbt sind. Solche Bilder sind geeignet, bei Uneingeweihten ganz falsche Vorstellungen von dem Aussehen eines Romanowsky-Bildes zu erwecken, und es dürfte daher für alle, welche diese Färbemethode anzuwenden gedenken, mit ihr aber noch nicht hinreichend vertraut sind, von Interesse sein, wenn einmal auf die Fehler, die am häufigsten zu Mißerfolgen führen, näher eingegangen wird.

Erfahrungsgemäß kommen folgende beide in erster Linie in Betracht: Entweder besitzt das destillierte Wasser, welches zur Bereitung des gebrauchsfertigen Gemisches dient, keine hinreichende Neutralität, oder die Farbstammlösung (Giemsa-Lösung) ist unsachgemäß zubereitet worden.

Es wurde schon früher darauf hingewiesen, daß die „ursprüngliche" Affinität der verschiedenen Zellen und ihrer Bestandteile zu den in der Lösung befindlichen amphochromen neutralen Farbsalzen nur in einem absolut neutralen Medium voll zur Geltung kommen kann, und daß mit Aufhebung dieser Neutralität auch das Elektionsvermögen der Zellgebilde gestört werden muß.

Ganz besonders schädlich wirkt die Anwesenheit selbst geringster Mengen freier Säure. Sie hat unfehlbar eine Verschiebung der Färbung zum Nachteil der azurophilen, d. h. derjenigen Elemente zur Folge, welche, wie die sogenannte Chromatinsubstanz (Zellkerne), die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„typische“ Rotreaktion geben soll, das Hauptcharakteristikum der Romanowsky-Färbung. Die Kerne erscheinen dann schwach bläulich oder gar nicht gefärbt und die ursprünglich gegenüber den amphochromen Farbstoffen ziemlich indifferenten, offenbar neutralen Elemente (z. B. die roten Blutkörperchen), die normalerweise Farbstoff kaum annehmen, werden ausgesprochen eosinophil. So kommt es, daß in solchen Fällen beispielsweise ein Blutausstrich infolge Beladung der zahlreichen Erythrozyten mit Eosin bereits makroskopisch stark rotstichig erscheint, während er sich bei gut gelungener Färbung als ein zarter, rötlich-violetter Hauch präsentiert.

Weist das Farbgemisch freies oder kohlensaures Alkali auf, so verschiebt sich die Färbung zum Nachteile der eosinophilen Zellbestandteile. Die des Chromatins fällt dann zwar ganz besonders intensiv aus, die Gesamtfärbung leidet aber darunter, daß die indifferenten Elemente, darunter auch die strukturlosen serösen Substanzen, nunmehr größere Mengen der blauen, basischen Farbstoffkomponente aufnehmen, wodurch die Differenzierung nachteilig beeinflußt wird. Bei einem Blutausstrich sind in solchen Fällen die bei gut gelungener Färbung mikroskopisch blaßrosa erscheinenden Erythrozyten blau gefärbt, und das ebenso tingierte Protoplasma der in ihnen befindlichen Parasiten, z. B. der Malariaparasiten, Piroplasmen, hebt sich vom Untergrunde kaum noch ab. Schon makroskopisch verrät sich ein solches Präparat durch sein intensiv blauviolettes Aussehen [1]).

Die Verwendung eines neutralen Wassers [2]) ist somit eine der allerwichtigsten Vorbedingungen für das Erzielen eines guten Romanowsky-Bildes, und insbesondere ist die Anwesenheit der geringsten Menge freier Säure peinlichst zu vermeiden, weil diese das Mißlingen der wichtigen Chromatinfärbung unfehlbar zur Folge haben muß.

Eine Säure, die nun bei weitem am häufigsten als Schädling in Frage kommt, ist die Kohlensäure, die sich in dem zum Verdünnen der Farblösung dienenden Wasser befindet. Die destillierten Wässer der Laboratorien weisen nämlich durchweg ziemlich erhebliche Mengen dieser Säure auf. Sie stammt zum größten Teil aus den Rohwässern und geht beim Destillierprozeß in das Destillat über, so daß gewöhnliches, ja selbst mehrfach destilliertes Wasser in färberischem Sinne stets als „sauer“ zu bezeichnen ist. Man kann nun die freie Säure, wie früher empfohlen wurde, durch Zusatz geringer Mengen sehr verdünnter Natron-

1) Auch Präparate, welche sehr lange Zeit dem Einfluß feuchter atmosphärischer Luft ausgesetzt gewesen sind, zeigen in der Regel, wenn sie nachher — selbst in neutraler Farbflotte — gefärbt werden, das gleiche Aussehen, was offenbar auf eine Alkaliabgabe zersetzten Glases an dem Ausstrich zurückzuführen ist. Durch Aufbewahren der frischen Präparate in gut abgedichteten Gefäßen über Chlorkalzium ($CaCl_2$) kann diesem Uebelstand auf Jahre hinaus vorgebeugt werden. Ist er jedoch erst einmal eingetreten, so läßt sich der Schaden durch nichts mehr reparieren.

2) Wenn es behufs besonderer Hervorhebung einzelner schwerer färbbaren Gebilde trotzdem in einzelnen Fällen (z. B. der Maurerschen Flecken oder der Halbmondkapseln bei Malaria perniciosa, der Schüffner-Tüpfelung bei Malaria tertiana, der Spirochaeta pallida usw.) erwünscht sein sollte, schwach alkalische Lösung zu verwenden, so fügt man dem Wasser vor Hinzumischen des Farbstoffes am besten Spuren von Kalium- oder Natriumhydroxyd hinzu (1—2 Tropfen einer 1-prom. Lösung auf 20 ccm Wasser). In der Regel kann man diese Gebilde jedoch auch, und zwar besser differenziert, zur Darstellung bringen, wenn man in absolut neutraler Lösung färbt. Genügt die Farbintensität nicht, so läßt sie sich ohne Benachteiligung der Kontrastwirkung dadurch verstärken, daß man das Farbgemisch, nachdem es 30 Minuten eingewirkt hat, durch Neigen des Objektträgers entfernt, frisch bereitetes Gemisch darauf gießt und eine weitere halbe Stunde färbt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bzw. Kalilauge neutralisieren. In noch bequemerer Weise läßt sie sich jedoch durch Auskochen entfernen. Zur Herstellung eines genügend großen Vorrates solchen „Neutralwassers" benutzt man zweckmäßigerweise einen Stehkolben aus Jenaer Glas von 1—2 l Inhalt, der zu $^2/_3$ mit destilliertem Wasser gefüllt und auf dem Drahtnetz erhitzt wird. Nach 5—10 Minuten langem lebhaften Sieden läßt man abkühlen und verschließt das Gefäß mit einem gut anliegenden Gummistopfen.

Von der Entsäuerung, die das Gefäß durch den Kochprozeß erfährt, kann man sich sehr leicht auf folgende Weise überzeugen: Man löst einige Körnchen möglichst farblosen Hämatoxylins in etwa 5 ccm Alkohol, füllt darauf je ein Reagenzglas zu $^1/_3$ mit un- bzw. frisch abgekochtem Wasser und mischt zu jeder Probe einige Tropfen der Hämatoxylinlösung hinzu. Erstere Probe bleibt längere Zeit unverändert, während sich letztere innerhalb weniger Minuten ausgesprochen rot verfärbt[1]). Durch diese einfach auszuführende Reaktion läßt sich auch leicht feststellen, ob der Wasservorrat nach längerer Aufbewahrung noch brauchbar ist oder nicht.

Auch auf eine andere wichtige Fehlerquelle sei hingewiesen. Die amphochromen festen Farbstoffe, die in der methylalkoholisch-glyzerinigen Lösung enthalten sind, lösen sich in Wasser ungemein schwer. Beim Vermischen der Farblösung mit Wasser entsteht daher eine sehr stark übersättigte Lösung, und es ist ein ganz natürlicher Vorgang, daß der Farbstoff nach einiger Zeit ausfällt. Da die Flüssigkeit nach Eintreten dieser Ausflockung ihre Farbkraft nahezu verloren hat und nur noch differenzierend wirkt, ist es im Interesse des Erzielens einer möglichst kräftigen Tinktion erforderlich, alles zu vermeiden, was die Ausfällung beschleunigt.

Hierfür kommen in Betracht:

1) Unnötig langes Mischen bei Herstellung der wäßrigen Verdünnung.

2) Herstellung zu großer Mengen dieser Mischung auf einmal.

3) Benutzung zu enger Zylinder, welche das Mischen erschweren. (Man gieße nie mehr als 20 ccm Wasser, und zwar in einen Meßzylinder von mindestens 3,5 cm Durchmesser, träufle aus einer Tropfflasche die Farblösung schnell hinzu, bewirke durch 5—8 maliges schnelles Umschwenken eine homogene Durchmischung und gieße die Flüssigkeit „unverzüglich" auf die „vorher" bereitgestellten alkohol- oder methylalkoholgehärteten Präparate.)

4) Verwendung von Glaszylindern, in denen sich noch Reste alter Mischung mit Farbstoffniederschlägen befinden. (Durch Ausspülen der Zylinder bald nach Gebrauch mit Wasser bleiben diese stets ohne weiteres verwendungsbereit.)

5) Verwendung von Wasser, das Mineralsalze, namentlich Chlornatrium oder Chlormagnesium enthält (Brunnen- oder Leitungswasser)[2]).

Die hohe Empfindlichkeit der Färbung gegen Verunreinigungen erwähnter Art bringt es naturgemäß mit sich, daß auch an die Reinheit der zur Bereitung der Farblösung nötigen Lösungsmittel hohe Anforderungen zu stellen sind[3]).

Gar häufig genügen diesen die im Handel befindlichen Marken nicht. Es ist ferner darauf zu achten, daß diese Produkte höchst

---

1) Der gleichen Probe bedient man sich vorteilhaft, wenn man mit den erwähnten Chemikalien neutralisiert.

2) Rohwässer, welche Gegenden mit Urgestein (Granit, Gneis) entstammen, sind in der Regel ziemlich salzarm und können sich unter Umständen nach Aufkochen sehr wohl zur Färbung eignen, ebenso sauber aufgefangenes, abgekochtes Regenwasser (an manchen Orten steht dest. Wasser nicht immer zur Verfügung!).

3) Genau nach meinen Angaben hergestellte, geprüfte Farblösung und Azurfarbstoffe sind bei Dr. Karl Hollborn, Leipzig, Kronprinzstr. 71, erhältlich.

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

konzentriert sind, denn schon ein verhältnismäßig geringer Wassergehalt setzt die Lösungsfähigkeit für die Farbstoffe sehr erheblich herab und führt zu Lösungen von ungenügender Farbkraft. So hat es sich gezeigt, daß das Glyzerin des deutschen Arzneibuches vom spezifischen Gewicht 1,235 bis 1,225 mit einem Wassergehalt von 11—14 Proz. wenig brauchbar ist. Weit geeigneter ist ein Glyzerin vom spezifischen Gewicht 1,26 mit einem Wassergehalt von nur 1,5 Proz. Ist man nicht im Besitze von Lösungsmitteln dieser Beschaffenheit, so wird man gut tun, mit fertig bezogener Lösung zu arbeiten.

Man achte ferner darauf, daß die Lösung stets in gut abgedichteten Gefäßen aufbewahrt wird. Andernfalls verdunstet der leichtflüchtige Methylalkohol; gleichzeitig nehmen die sehr hygroskopischen Flüssigkeiten Wasser aus der Luft auf, Vorgänge, welche eine Abscheidung festen Farbstoffes und schließliches Unbrauchbarwerden der Lösung zur Folge haben.

Zur weiteren Orientierung über diese Färbemethode, über deren Variationsmöglichkeit sowie über die Theorie des Färbeprozesses diene nachstehende Literatur.

Literatur.

Giemsa, G., Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904. S. 308.) — Beitrag zur Färbung der Spirochaeta pallida. (Dtsch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 17.) — Ueber die Färbung von Schnitten. (Ebenda 1910. Nr. 12.) — Ueber die Färbung von Feuchtpräparaten und Schnitten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. S. 489. — Das Wesen der Giemsa-Färbung. (Ebenda Orig. Bd. 89. 1922. S. 99.) — Unna, P. G., Das Wesen der Giemsa-Färbung. (Ebenda Orig. Bd. 88. 1922. S. 159.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Wert der Gärungsprobe bei 46° (Eijkman) und der Indolreaktion zur Begutachtung von Wasserproben.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut des Hauptgesundheitsamtes der Stadt Berlin.]

Von Dr. **Fritz v. Gutfeld**,

Wissenschaftliches Mitglied.

Die gebräuchlichste Probe zur Untersuchung von Wasserproben auf fäkale Verunreinigung war bisher die von Eijkman (1) angegebene Prüfung der Traubenzuckervergärung bei 46°. Ihre Anwendung „beruht auf der empirischen Tatsache, daß in Warmblüterfäzes regelmäßig thermotolerante Gärungsorganismen vorkommen, und daß diese in einwandfreiem Wasser zu fehlen pflegen“ (2). Die Empfindlichkeit bezeichnet Eijkman als eine recht zufriedenstellende; entgegengesetzte Befunde „dürften auf fehlerhafter Versuchsanordnung beruhen“ (2). Darunter versteht Eijkman eine zu hohe Brutschranktemperatur oder beim Sterilisieren zu stark erhitzte Nährlösung. Beiden Einwänden haben wir in unseren Untersuchungen Rechnung getragen; die Brutschranktemperatur sowie Nährlösung [1]) wurden jedesmal durch Ansetzen

1) Ueber unsere Untersuchungen geeigneter Nährlösungen soll gesondert berichtet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer Probe mit einem echten, bei 46° vergärenden Coli-Stamm kontrolliert.

Vor einiger Zeit hat nun Gersbach (3) eine Methode veröffentlicht, bei der die zu untersuchenden Wasserproben in eine Trypsinbouillon (nach Frieber) eingebracht werden. Die nach 24 und 48 Std. vorgenommene Indolreaktion läßt fäkale Verunreinigungen erkennen. Nach Gersbachs Befunden kommen praktisch (im Wasser) hierfür nur Coli- und Paracoli-Bazillen in Betracht. Im Gegensatz hierzu wurden allerdings von Horowitz (4) sowie Salus und Hirn (5) positive Indolreaktionen erzielt mit Wasserproben, die sicher frei von fäkaler Verunreinigung waren. Eine Nachprüfung der Gersbachschen Angaben erschien daher notwendig; wir haben deshalb die Eijkmansche Gärprobe sowie die Indolprüfung gleichzeitig angesetzt.

Die Prüfung mit beiden Methoden versprach außerdem, die Ausbeute an positiven Resultaten zu vermehren, da ja zwei verschiedene, voneinander unabhängige Eigenschaften der Keime als Indikatoren benutzt werden.

Die Technik, deren wir uns bei unseren im Juli 1922 begonnenen Versuchen bedienten, war folgende: Jede Wasserprobe wurde sofort nach Ankunft im Laboratorium in 6 Röhrchen verteilt, davon dienten 2 der Eijkman-Probe, die übrigen 4 dem Nachweis der Indolreaktion. Entsprechend der höheren Empfindlichkeit der Indolprobe, haben wir für diese Reaktion geringere Wassermengen benutzt, als für die Gärprobe. Es erhielten:

Röhrchen	1	1 ccm Wasser	+ Eijkman-Lösung[1]), Gesamtvolumen	8 ccm
„	2	1 Tropfen Wasser	+ „ „	8 ccm
„	3	2 „ „	in Trypsinbouillon	
„	4	2 „ „	„ „	
„	5	1 „ „	„ „	
„	6	1 „ „	„ „	

Dazu jedesmal folgende Kontrollen:

Röhrchen	7	unbeimpfte Eijkman-Lösung (Sterilitätsprüfung)
„	8	„ Trypsinbouillon „
„	9	mit echtem Coli beimpfte Eijkman-Lösung
„	10	„ „ „ „ Trypsinbouillon

Die zum Vergären bestimmten Gemische wurden in kleine V-förmige selbst angefertigte Röhrchen mit einem offenen und einem geschlossenen Schenkel eingefüllt und sofort in den 46°-Schrank verbracht. Die Ablesung des Gärversuchs fand nach 24 und 48 Std. statt. In den meisten Fällen war die Traubenzuckervergärung bereits nach 24 Std. eingetreten, doch vergoren einige Proben erst nach 48-stünd. Aufenthalt bei 46°; eine 2. Ablesung ist deshalb erforderlich, wenn nach 24 Std. noch keine Gärung eingetreten ist. Die zur Indolreaktion benutzten Röhrchen wurden ebenfalls nach 24 und 48 Std. geprüft (durch Hinzufügen einiger Tropfen einer Lösung von para-Dimethylamidobenzaldehyd in salzsaurem Alkohol). Dabei wurden nach 24 Std. die Röhrchen Nr. 3 und 5, nach 48 Std. Nr. 4 und 6 benutzt. Die Indolreaktion war meist bereits nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt positiv; in einigen Fällen wurde sie aber erst nach 48 Std. positiv, in einigen weiteren Fällen war sie nach 24 Std. positiv, nach 48 Std. negativ. Auch die Indolprüfung muß daher nach

1) Die Eijkman-Lösung wurde mit sterilem destillierten Wasser so verdünnt, daß nach Zufügung der zu untersuchenden Wasserprobe die vorgeschriebene Konzentration (1 Proz. Traubenzucker, 1 Proz. Witte-Pepton, 0,5 Proz. NaCl) resultierte.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

24 und 48 Std. vorgenommen werden. Eine schwache oder undeutliche Indolreaktion läßt sich durch Erwärmen des Röhrchens gut sichtbar machen; beim Erkalten blaßt die Farbe wieder ab, um beim Erwärmen von neuem deutlich hervorzutreten. Im Ganzen haben wir 102 Proben mit beiden Methoden parallel untersucht, hiervon ergaben:

Tabelle I.

Eijkman pos. Indol pos.	Eijkman pos. Indol neg.	Eijkman neg. Indol pos.	Eijkman neg. Indol neg.
29	0	40	33

Hiervon wurden 55 Proben genauer untersucht. Die daraus auf Platten gezüchteten Keime wurden auf folgende Spezialnährböden gebracht: Lackmusmolke, Barsiekow-Traubenzuckerlösung, Barsiekow-Milchzuckerlösung, Traubenzuckeragar, Neutralrotagar, Gelatine. Ferner wurde bei diesen Keimen ihr Gärungsvermögen bei 46° (Eijkman-Lösung), Indolbildung, Beweglichkeit und Verhalten der Gram-Färbung gegenüber geprüft.

Bevor wir unsere Ergebnisse mitteilen, müssen folgende Fragen beantwortet werden:

1) Welche Keime sind als Indikator für fäkale Verunreinigungen zu bezeichnen? — 2) Ist der Coli-Nachweis ein sicheres Kriterium der fäkalen Verunreinigung? — 3) Welche Eigenschaften muß ein Keim haben, um als Coli identifiziert zu werden?

Jede der 3 Fragen wird von verschiedenen Untersuchern in verschiedener Weise beantwortet. Wir möchten unseren Standpunkt folgendermaßen präzisieren:

1) Als fäkale Verunreinigung kommt praktisch nur Bact. coli in Betracht. Etwa ins Wasser gelangte pathogene Darmbakterien sind naturgemäß auch „fäkale Verunreinigung“, spielen aber nicht die Rolle eines Indikators, auf die es hier ankommt.

2) Wir halten das Vorhandensein von Bact. coli für den sicheren Beweis fäkaler Verunreinigung. Allerdings brauchen die Keime nicht immer aus dem menschlichen Darm zu stammen.

3) Die Ansprüche, die verschiedene Autoren an die Eigenschaften des Bact. coli stellen, sind recht verschieden. Wir haben folgende Mindestforderung als notwendig erachtet:

Gramnegative, bewegliche, sporenfreie Stäbchen, welche Gelatine nicht verflüssigen, Milchzucker und Traubenzucker unter Gas- und Säurebildung zersetzen (Prüfung in Traubenzuckeragar, Drigalski-Agar, Barsiekow-Milchzucker und Traubenzuckerlösungen). Indolbildung

Tabelle II.

Ausfall der beiden Proben									
	a	b	c	d		e	f	g	h
Eijkman Indol	+ +	+ —	— +	— —	Eijkman Indol	+ +	+ —	— +	— —
Züchtung ergab Coli	20	0	14	0	Züchtung ergab Nicht-Coli	2	0	11	8
	34					21			

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

halten wir nicht für obligat, obgleich wir sie bei unseren sämtlichen Stämmen feststellen konnten.

Wir haben die von uns isolierten Keime nach den angegebenen Merkmalen eingeteilt in Coli und Nicht-Coli. Unsere Befunde zeigt Tab. II.

Völlige Uebereinstimmung beider Proben konnten wir demnach 30mal feststellen (Stäbe a, d, e, h). Bei gleichzeitigem negativen Ergebnis beider Reaktionen enthielt das Wasser niemals Coli, während es sich in 2 Fällen (Stab e) mit positivem Ausfall um Nicht-Coli handelte.

Aus diesen beiden Wasserproben wurden Keime isoliert, die Gelatine verflüssigten, sonst aber alle oben angeführten Coli-Merkmale in typischer Weise zeigten.

Die 14 Fälle (Stab c), in denen die Indolprobe positiv, Eijkman negativ bei Anwesenheit von Coli-Bazillen waren, beweisen, daß die Indolprobe empfindlicher ist, als die Eijkman-Probe, da offenbar die Zuckervergärung bei 46° eine höhere Anforderung für den Coli-Bazillus darstellt, als die Indolbildung bei 37°. Daß die Thermotoleranz, oder vielmehr die Gärfähigkeit für Glukose bei 46° eine schwankende Eigenschaft des B. coli ist, geht aus unseren folgenden Befunden hervor: Aus 13[1]) Wasserproben, die beim Ansetzen zunächst negativen Eijkman und positive Indolreaktion gaben, isolierten wir Coli-Stämme, deren Gärfähigkeit bei 46° nach mehrfachen Ueberimpfungen geprüft wurde. Die erhaltenen Reinkulturen erlangten 9mal diese Eigenschaft, 4mal nicht.

Die Indolprobe war 11mal positiv in Fällen, in denen Coli-Keime nicht nachgewiesen werden konnten (Stab g); Eijkman war hier negativ. Gerade diese Fälle dürften zur Entscheidung über den Wert der Indolprobe als Zeichen der fäkalen Verunreinigung von Bedeutung sein. Die daraus gezüchteten Stämme verflüssigten sämtlich Gelatine, wurden daher als Nicht-Coli von uns bezeichnet. 2 dieser Stämme vergoren nach einigen Passagen die Eijkman-Lösung bei 46°, einige ließen auch bei 37° Traubenzuckeragar unvergoren. Im hängenden Tropfen zeigten sich alle 11 Stämme als bewegliche Stäbchen. Barsiekow-Traubenzuckerlösung wurde von allen angegriffen (Rötung und Fällung).

Die Indolprobe gab also hier falsche Resultate nach der positiven Seite hin.

Zusammenfassung.

Die Untersuchung von Wasserproben nach der Eijkmanschen und der Indolprüfungsmethode hat folgendes ergeben:

1) Absolute Beweiskraft hat nur der gleichzeitige negative Ausfall beider Proben: in solchen Fällen ist eine fäkale Verunreinigung auszuschließen. — 2) Positiver Ausfall beider Proben macht fäkale Verunreinigung sehr wahrscheinlich. — 3) Die Indolprobe ist empfindlicher als die Gärprobe bei 46°, gibt aber häufiger positive Befunde bei Abwesenheit von Coli-Bazillen. — 4) Zur sicheren Beurteilung ist auch

1) Bei einer Probe wurde diese Prüfung nicht ausgeführt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei positivem Ausfall einer oder beider Proben die Isolierung und bakteriologische Identifizierung der Keime vorzunehmen.

Literatur.

1) Eijkman, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. — 2) Ders., ebenda. Abt. II. Bd. 39. — 3) Gersbach, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 88. — 4) Horowitz, ebenda. Abt. II. Bd. 38. — 5) Salus u. Hirn, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 90.

Nachdruck verboten.

Ein neues Verfahren zur Isolierung von Bakteriensporen aus Bakteriengemischen.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie „Emil v. Behring" Marburg a. L.]

Von **H. Dold.**

Um aus Bakteriengemischen, die sich aus sporenhaltigen und nichtsporenhaltigen Bakterienarten zusammensetzen, die Bakteriensporen zu isolieren und damit die Reinzüchtung der betreffenden Arten zu erleichtern, kamen bisher 2 Verfahren in Anwendung:

1) Das Hitzeverfahren: das betreffende Bakteriengemisch wurde (wenn nötig, in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt) im Wasserbade 5 Min. bis 1 Std. auf 70 bis 85° erwärmt. — 2) Das Antiforminverfahren (Uhlenhuth und Xylander): hierbei werden die Bakteriengemische mit Antiforminlösungen eine bestimmte Zeitlang versetzt, wobei das nichtsporenhaltige Material zugrunde geht bzw. aufgelöst wird, während die Bakteriensporen der Einwirkung des Antiformins widerstehen. Die Angaben über die jeweils notwendige und geeignetste Antiforminkonzentration und über die notwendige und geeignetste Einwirkungszeit schwanken beträchtlich. Nach Uhlenhuth vertragen z. B. Milzbrandsporen eine 7-stünd. Einwirkung von 10-proz. Antiforminlösung, während nach Kade die genannte Antiforminkonzentration Milzbrandsporen schon in etwa 4 Std. abtötet, und nach Tuchler eine 24-stünd. Einwirkung einer 2½—5-proz. Antiforminlösung noch nicht genügt, um Milzbrandsporen abzutöten [1]).

Wie aus dem Obigen ersichtlich, schwanken auch bei dem Erhitzungsverfahren die Angaben über die notwendigen und geeignetsten Hitzegrade sowie über die notwendige und geeignetste Hitzeeinwirkungsdauer beträchtlich.

Das hier mitzuteilende neue Verfahren zur Isolierung von Bakteriensporen aus Bakteriengemischen beruht auf der früher von mir mitgeteilten Beobachtung [2]), daß Bakteriensporen gegenüber der Einwirkung konzentrierter Harnstofflösungen eine ausnehmend große Widerstandskraft besitzen, die nur noch von Tuberkelbazillen (und deren Verwandten) annäherungsweise erreicht wird.

Das Verfahren gestaltet sich sehr einfach: Man schwemmt, wenn nötig, das zu untersuchende Material etwa in 0,5 oder 1 ccm Flüssigkeit (physiol. Kochsalzlösung) auf, bringt die Aufschwemmung in ein Wasserbad von 37°, trägt Harnstoff bis zur Sättigung ein (es soll am Boden noch etwas unaufgelöster Harnstoff vorhanden sein) und läßt 5—10 Min.

---

1) Nach Klimmer, Technik u. Methodik d. Bakteriologie. Berlin (Jul. Springer) 1923. S. 260.

2) S. die kurz zuvor in dieser Zeitschrift erschienene Arbeit: H. Dold, Beiträge zur Frage der Wirkung des Harnstoffs auf Bakterien.

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

im Wasserbad stehen. Hierauf impft man in der gewöhnlichen Weise auf ein Schrägagarröhrchen ab und erhält, falls in dem Gemisch Sporen vorhanden waren, die sporentragenden Bakterien isoliert von den übrigen, nicht sporentragenden Arten.

In den meisten Fällen genügt ein 5 Min. langer Aufenthalt im Wasserbade bei 37°. Im Brutschranke von 37° ist in der Regel eine 1/2-stünd., bei Zimmertemperatur (18—20° C) eine 2—4-stünd. Einwirkung des Harnstoffs nötig, um die nicht-sporenhaltigen Begleitbakterien abzutöten.

Die bisherigen Untersuchungen haben die praktische Brauchbarkeit des Verfahrens erwiesen, worüber in einer eingehenderen Mitteilung noch berichtet werden wird.

Zusammenfassung.

Versetzt man eine Aufschwemmung eines Bakteriengemisches, das sich aus sporenhaltigen und nichtsporenhaltigen Bakterienarten zusammensetzt, bis zur Sättigung mit Harnstoff, und läßt man das Gemisch 5—10 Min. im Wasserbade bei 37° oder 1/2 Std. im Brutschrank (37°) oder 2—4 Std. bei Zimmertemperatur stehen, so erhält man nach Verimpfung des Materials auf Agar lediglich ein Wachstum von sporenhaltigen Bakterienarten. Das Verfahren eignet sich demnach zur Isolierung von Sporen (z. B. Milzbrandsporen) aus Bakteriengemischen.

Nachdruck verboten.

Berichtigung einer von M. Knorr im Zentralblatt für Hygiene und deren Grenzgebiete Bd. 4. 1923. Heft 2 gemachten Bemerkung über ein von mir in diesem Blatte angegebenes neues anaërobes Plattenverfahren.

Von Dr. **Otto Saphir,**

dzt. Hanna Research Fellow, Western Reserve Universität, Department of Pathology, Cleveland, Ohio, U.S.A., Vorstand Prof. Dr. Howard T. Karsner.

M. Knorr hat in seiner oben zitierten Arbeit über „Ergebnisse neuerer Arbeiten über krankheitserregende Anaërobier“, und zwar im I. Teil, betreffend die anaërobe Züchtung S. 81, folgende mich tangierende Bemerkung gemacht:

„Saphir hat anscheinend in Unkenntnis dieses Verfahrens neuerdings ein fast gleiches angegeben und es auch für gut befunden“. Dazu will ich nun folgendes bemerken:

1) war mir das von M. Knorr angegebene Verfahren keineswegs unbekannt. (Daß ich nicht alle Arbeiten, anaërobe Kulturmethoden betreffend, anführen konnte, sondern nur die, die mir am wichtigsten erschienen, geht aus der überall bekannten Aufforderung hervor, mit Literaturangaben, den Zeitverhältnissen entsprechend, möglichst sparsam zu sein.) — 2) habe ich sein Verfahren durchaus nicht für richtig befunden, da ich mich sonst nicht veranlaßt gesehen hätte, ein anderes zu publizieren. — Im folgenden möge es mir erlaubt sein, kurz auf die Unterschiede beider Verfahren einzugehen:

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nach der von Knorr[1]) angegebenen Methode wird allerdings keine eigene Apparatur verwendet; doch werden gewisse Rauminhaltsunterschiede beider Platten gefordert, die bei gleich großem Umfange derselben in einem kleineren Laboratorium doch nicht immer vorhanden sind. Ferner wird ausdrücklich darauf hingewiesen, daß man sich — so wie bei den anderen bisher angegebenen Verfahren[2]) — sehr mit dem Plattenverschluß beeilen muß; „man preßt sofort Platte I auf Platte II"; denn trotzdem Knorr nach Treadwell mitteilt, daß von dem verwendeten Absorptionsgemenge genugsam Sauerstoff absorbiert werden kann, kann doch bei etwas langsamerem Arbeiten viel mehr O der Luft nachdringen, so daß die ganzeM ethode hinfällig wird.

Die Vorteile der von mir verwendeten Arbeitsmethode gehen aus meiner Arbeit in diesem Centralblatt Bd. 90. 1923. Heft 3 ohne weiteres hervor. Kurz wiederholen möchte ich nur 2 Punkte, im Gegensatze zur Arbeit Knorrs: 1) Man braucht nur 2 Schalen gleichen Umfanges, wobei Raumunterschiede derselben gar keine Rolle spielen — was aus Punkt 2 hervorgeht — (wenn man nur 2 Plattenpaare hat, so genügen 2 obere oder 2 untere Petri-Schalen) — und 2) man kann sich genügend Zeit lassen, die beschickte Platte auf die das Absorptionsgemenge enthaltende zu stellen, da der Absorptionsprozeß durch eine sehr einfache Modifikation, und das ist das Wesentlichste meines Verfahrens, erst etwa 1/2 Std. nach Fixierung beider Platten und dann erst ganz allmählich einsetzt.

Die von mir beschriebene Methode ist daher mindestens eine Verbesserung, welche besondere Vorteile zeigt, aller bisher angegebenen, einschließlich des Knorrschen Verfahrens.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. Heft 3/4.
2) Siehe Literatur meiner Arbeit. S. 1.

Inhalt.

Brekenfeld, Zur Technik der Anaërobenzüchtung. I. Verwertung des Pyrogallol-Vakuumprinzips für Einzelplattenkulturen. Mit 1 Abbildung im Text, S. 338.
Dold, H., Ein neues Verfahren zur Isolierung von Bakteriensporen aus Bakteriengemischen, S. 350.
Giemsa, G., Zur Praxis der Giemsa-Färbung, S. 343.
Gutfeld, Fritz v., Ueber den Wert der Gärungsprobe bei 46° (Eijkman) und der Indolreaktion zur Begutachtung von Wasserproben, S. 346.
Kadisch, Ernst, Beiträge zur Anaërobentechnik. Mit 4 Abbildungen im Text, S. 330.
Kirchner, Otto, Zur Technik der Anaërobenzüchtung. II, S. 340.
Kister, Endo-Nährböden bei der Pestdiagnose, S. 280.
Lange, L., und **Kersten, H. E.,** Weitere Untersuchungen über „Bayer 205", S. 323.
Manteufel, P., und **Tomioka, Y.,** Ueber die Benutzung von Fleisch an Stelle von Serum als Antigen bei der Herstellung von präzipitierenden Antiseren für die biologische Nahrungsmitteluntersuchung, S. 317.
Mirone, Giuseppe, Weitere Anwendungen des Entfärbungsvermögens der chinesischen Tusche in der bakteriologischen Technik, S. 300.
Saphir, Otto, Berichtigung einer von M. Knorr im Centralblatt für Hygiene und deren Grenzgebiete Bd. 4. 1923. Heft 2 gemachten Bemerkung über ein von mir in diesem Blatte angegebenes neues anaërobes Plattenverfahren, S. 351.
Schmidt, Ludwig, Ueber eine durch Leberegel bedingte Seuche beim Meerschweinchen, S. 315.
Schuckmann, W. v., Zur Biologie von Dictyostelium mucoroides Bref. Mit 1 Abbildung im Text, S. 302.
Simon, M., Ueber die Häufigkeit der Lamblieninfektion im Rheinlande, S. 309
Tanner, Fred W., and **Dack, Gail M.,** A Study of Yeasts from Sore Throats, S. 282.
Weintraub, A., Ueber Glukosidspaltung durch Bakterien der Coli-Gruppe, S. 273.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 91. Heft 6.

Ausgegeben am 25. März 1924.

Nachdruck verboten.

Ueber das Wesen der Bakterienkapseln.

Von Prof. Dr. **S. Plasaj**, Tierärztliche Hochschule Zagreb (Jugoslavien).

Ueber das Wesen der sog. Kapseln der Bakterien bestehen hauptsächlich 3 Meinungen: die Mehrzahl der Autoren betrachtet die Kapseln als hüllenartige Bestandteile des Bakterienkörpers; einige Autoren aber betrachten sie als hüllenartige Kunstprodukte (z. B. Wüstenberg), und nur sehr wenige (Fischer, v. Baumgarten, Enderle) beschreiben die Erscheinung als ringförmig, nicht hüllenartig. Die Resultate meiner Untersuchungen über das Wesen der Kapseln, die ich mit Stämmen mehrerer sog. Kapselbakterien (B. pneumoniae Friedländer, B. capsulatus mucosus, Streptococcus lanceolatus) und B. anthracis ausgeführt habe, sprechen auch gegen die Annahme, daß in Präparaten einiger Bakterien jene wenig oder nicht gefärbten, um die Bakterienkörper wahrnehmbaren, von einem gut gefärbten Saum (äußere Schicht) abgegrenzten Höfe etwas Hüllenartiges und in der Form, in welcher es gewöhnlich beobachtet wird, schon in der Kultur des Bakteriums Präexistierendes ist, und zwar aus folgenden Gründen:

a) Es gibt Präparate, in welchen die Kapseln, obwohl sie von einem breiten Saum von ihrer äußeren Schicht, von der man behauptet, daß sie zur Kapsel gehört, abgegrenzt sind, fast gar nicht gefärbt sind und der Bakterienkörper innerhalb dieser Säume mit klar abgegrenzten Rändern sichtbar ist. Sollte diese äußere Schicht den Bestandteil einer Bakterienkapsel darstellen, so müßte sie als Hülle den Bakterienkörper mehr oder weniger verdecken bzw. unsichtbar machen, was aber auch bei noch so breiten und starken äußeren Säumen nicht der Fall ist. Klar zeigte sich, daß es sich um keine Hüllen handelt, namentlich in jenen Fällen, wo die Zelle in einem glashellen, aber von einem sehr dicken Saum umgebenen Hofe liegt. — b) Die Kapsel ohne ihre äußere Schicht, also die Gegend zwischen Bakterienkörper und Kapselsaum, erscheint oft auch nach denjenigen Manipulationen hell, bei welchen sonst jede (schleimartige oder ähnliche) organische Substanz wenigstens etwas Darstellungsstoff aufnimmt (sie bleibt zuweilen hell, z. B. bei Verwendung des Versilberungsverfahrens zur Geißeldarstellung nach Zettnow). Wir haben also auch für den Fall, daß die äußere Schicht als nicht der eigentlichen Kapsel zugehörig angesehen wird, keinen Grund, anzunehmen, daß sich um den Bakterienkörper herum in Form einer Hülle eine schwer färbbare Substanz befindet, denn es ist nicht einzusehen, warum diese Substanz manchmal bei stärkster Färbung ungefärbt bleibt. — c) Man sieht in einigen Präparaten Höfe, in denen Bakterien ganz oder teilweise fehlen (Milzbrand). Handelte es sich um Hüllen, so könnten die Bakterien nicht aus den fixierten Hüllen ausschlüpfen, bzw. falls das Ausschlüpfen intra vitam geschehen wäre, könnten die Konturen der leeren und demnach noch nachgiebigeren Hüllen nicht so

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gut in ihrer Form erhalten bleiben. — d) An den im hängenden Tropfen oder überhaupt an den in einer Flüssigkeit suspendierten, gefärbten oder ungefärbten und scharf eingestellten Bakterien sieht man keine Kapseln.

Diese Gründe sprächen also dafür, daß das, was wir in trockenen Präparaten um die Bakterienkörper herum sehen, nur ringförmig, nicht aber sphärisch, d. i. hüllenartig, die Bakterienkörper umgibt, und daß es nicht in der Form, in welcher es in Trockenpräparaten zur Ansicht kommt, in der Kultur des Bakteriums präexistiert, sondern während der Anfertigung des Präparates entsteht.

Im Sinne Fischers erklärt v. Baumgarten[1]) die Entstehung dieser Erscheinung, die man allgemein als Kapsel bezeichnet, auf folgende Weise: „Die Einbettungsflüssigkeit, die in sehr dünner Schicht auf dem Deckglas ausgebreitet wird, trocknet früher ein als die wasserreichen Bazillen, die bei der Eintrocknung etwas zusammenschrumpfen, am stärksten, wenn das letzte Wasser verdunstet und der Eiweißüberzug bereits angetrocknet ist. Um den Bazillus entsteht somit ein Ring, der im gefärbten Präparat den gefärbten Bazillus als ein heller Hof umgibt. Dieser setzt sich gegen den mitgefärbten Eiweißüberzug scharf ab und täuscht so eine Kapsel vor. Zum Beweise hierfür färbt v. Baumgarten Bazillen aus Agarkultur, die in Wasser am Deckglas angetrocket sind, und findet keine Kapseln; werden dagegen Bazillen aus derselben Kultur in einer Gewebsflüssigkeit eines gesunden Tieres ausgetrocknet und gefärbt, so tritt wieder Kapselbildung ein“ [2]).

Für diese Auffassung spricht auch das Ergebnis der Untersuchungen von Enderle[3]), der die hellen, in der Regel nicht gefärbten, nach außen meist durch eine feine, gefärbte Linie begrenzten Höfe, die er in den Trockenpräparaten der Bazillen um diese (gleichviel, ob sie auf Bouillon, Agar, Blutserum oder im lebenden Tierkörper gewachsen waren) gesehen hat, für nichts anderes halten kann, als für durch Schrumpfung der Bazillen bedingte Lücken im Ausstrich.

Diese Erklärungen, mit Annahme einer Retraktion des Bakterienkörpers, scheinen insofern ganz unrichtig zu sein, als sie unserer Kenntnis von der Größe der in Betracht kommenden Bakterien in lebendigem Zustande widersprechen. Denkt man sich nämlich die Kapselhöfe als durch Retraktion des Bakterienleibes während des Trocknens entstanden, so müßten wir z. B. ein lebendes, nicht retrahiertes, in einer Flüssigkeit suspendiertes (und eventuell gefärbtes) B. pneumoniae beinahe 3mal so dick sehen, als im gefärbten trockenen Präparate, was aber nicht der Fall ist.

Ich möchte nun versuchen, das Wesen der Erscheinung durch eine andere, von der von Fischer, v. Baumgarten und Enderle angegebenen verschiedene, mit den bakteriologischen Tatsachen nicht im Widerspruch stehende Annahme zu erklären: Wir können einen Vorgang demonstrieren, der die „Kapsel-, Schleimhüllen- und Scheinhüllenbildung“ der Bakterien schön imitiert: In einer weißen Schale verrührt man z. B. mit Wasser etwas zerstaubte Kohle, in der man zugleich größere, etwa mohnsamengroße Kohlepartikelchen gelassen hat, und gießt das Wasser

1) Zitiert nach Wüstenberg (Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 43. S. 1).
2) Trotz der oben genannten Erklärung steht v. Baumgarten auf dem Standpunkte, daß das Vorkommen einer wirklichen Kapselbildung nicht bezweifelt werden kann. Zitiert nach Wüstenberg, l. c.
3) Arbeiten aus dem path.-anat. Institut Tübingen (v. Baumgarten). Bd. 8. S. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ab. Es erscheinen dann oft im Rückstande auf dem Boden um die größeren Partikelchen herum kreisförmige, den Bildern der eine Kapsel zeigenden Bakterien gleich aussehende Figuren, die mehr oder weniger hellen Höfe und Säume. Die nahen, sich berührenden Partikelchen werden von einem gemeinsamen Hofe umgeben (Zoogloeaform).

Meiner Ansicht nach sind die sog. Kapseln bei den Bakterien durch homologe Kräfte bedingt, durch die sich im beschriebenen Falle die kleineren Partikelchen um die größeren in einem bestimmten Abstande anordnen, d. i., die Ursache der Entstehung der Hofbildung liegt wahrscheinlich in der Aenderung des Konzentrationsverhältnisses zwischen der Bakterienoberfläche und ihrer Umgebung, wobei die winzigen, in der Regel von den Bakterien abstammenden und in ihrer Umgebung sich befindenden Partikelchen (Schleimpartikelchen, zerfallene Geißelsubstanz) in der Suspensionsflüssigkeit durch die Oberflächenspannungskräfte um die Bakterien angeordnet werden. Durch diese Annahme über das Wesen der Kapseln (der Höfe) würde manches verständlicher werden, namentlich in bezug darauf, daß die Färbung der Kapseln nicht immer gelingt. Sie gelingt nämlich nur dann, wenn die Säume um die Bakterien sich überhaupt gebildet haben und durch eine genügende Menge von Partikelchen dick genug ausgefallen sind. Sie gelingt leichter bei von der Oberfläche viel Schleim absondernden Bakterien, als bei anderen, bei denen dies nicht der Fall ist; leichter ferner beim Ausstreichen eines die Bakterien enthaltenden Gewebssaftes oder beim Ausstreichen der Kultur in Tusche, Kollargol (Hamm)[1], Glyzerineiweißlösung (Boni)[2] u. dgl., als beim Ausstreichen in Wasser. Aus dieser Deutung des Wesens der Kapseln (Höfe), deren Bildung nur durch die Faktoren vor der Austrocknung des Präparates bedingt zu sein scheint, ergibt sich, daß die Methodik zur Darstellung der Kapseln einer prinzipiellen Aenderung der Richtung bezüglich des Suchens eines besseren Darstellungsverfahrens bedarf. Aktuell sind nicht Untersuchungen über die färberischen Manipulationen **nach** der Austrocknung des Präparates, die schon in großer Zahl veröffentlicht worden sind, sondern jene über das Wesen der Faktoren, die **vor** der Austrocknung die Hofbildung bestimmen.

Zusammenfassung.

Die sog. Bakterienkapseln sind Artefakte, und zwar keine hüllenartigen, sondern ringförmigen, die in der Kultur des Bakteriums nicht präexistieren, sondern erst beim Ausstreichen der Bakterien vor (bzw. während) der Austrocknung der die Bakterien enthaltenden Flüssigkeit entstehen. Die Ursache der Entstehung dieser Kunstprodukte liegt nicht, wie Fischer und Enderle angenommen haben, in der Zusammenziehung der Bakterienkörper während ihrer Austrocknung, sondern es erscheint wahrscheinlich, daß die Bildung dieser Bakterienringe in der Wirkung der Oberflächenspannungskräfte liegt.

1) A. Hamm, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. S. 287.
2) J. Boni, ebenda Bd. 28. S. 705.

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Kasuistische Beiträge zur Bakteriologie der Aërogenes-Gruppe.

[Aus der veterinärbakteriologischen Untersuchungsstelle bei der Prosektur in Troppau, tschechosl. Rep.]

Von Dr. **E. Januschke,** Staatsveterinär.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Von der engeren Friedländer-Gruppe unterscheiden sich nach Strong die Aërogenes-Bakterien dadurch, daß sie nicht nur Trauben- und Rohrzucker, sondern auch Milchzucker unter Säurebildung zersetzen und auf künstlichen Nährboden keine Kapseln bilden, von den eigentlichen Coli-Bakterien durch die Schleimproduktion und durch das Fehlen der Eigenbewegung. Indessen wird dieses letztere Merkmal auch bestritten.

Auch sonst decken sich die Literaturangaben über die charakteristischen Merkmale der Aërogenes-Bakterien in mehrfacher Hinsicht nicht. Kruse gibt an, daß sie gleiche Eigenschaften haben wie die Coli, nur unbeweglich sind und in schleimigen Kolonien wachsen. Nach C. O. Jensen sind sie beweglich und zeichnen sich vor Coli durch weitaus stärkeres Gärungsvermögen aus. Ebenso beschreiben Hopffe nnd Hartmann ein lebhaft bewegliches Kapselbakterium. Wilde läßt die Beweglichkeit als Unterscheidungsmerkmal nicht gelten. Abel und Hallwachs bezeichnen als Unterscheidungsmerkmal der Aërogenes- und anderer Kapselbakterien von den Coli-Bazillen das Fehlen der Indolbildung. Auch nach Lehmann-Neumann bildet das Bact. aërogenes lactis kein Indol; es unterscheidet sich im übrigen nach diesen Autoren durch die gramnegative Färbung von dem grampositiven Bact. lactis aërogenes = Bac. acidi lactis = Streptococcus acidi lactici. Es gibt ferner nach denselben Autoren gelatineverflüssigende, coli-ähnliche Formen, welche gramfest sind und Gestank erregen. Das echte Bact. aërogenes wächst in Gelatine ohne Verflüssigung in sogen. Nagelformkultur. Die biologischen Eigenschaften der Aërogenes-Gruppe seien übrigens variabel, weshalb über Zusammengehörigkeit und Klassifikation der Arten verschiedene Auffassung herrsche. Mießner spricht von einem Diplobacterium capsulatum, das er bei der Fohlenlähme isolierte und das in die Gruppe der Aërogenes-Bazillen gehört, in wefcher es sich durch Doppellagerung innerhalb der Schleimkapsel auszeichnet.

Als charakteristisch für die echten Aërogenes-Bakterien gilt also die gramnegative Färbung, die Schleimproduktion, das biochemisch den Coli-Bazillen gleiche Verhalten und das Fehlen der Indolbildung und der Gelatineverflüssigung.

Von 4 unzweifelhaften Aërogenes-Stämmen, je 1 von mir aus einem Falle von Fohlenseptikämie (zusammen mit Bac. pyocyaneus und Bact. coli B) und aus den Organen eines mit zahlreichen Exemplaren von Trichocephalus crenatus und Strongylus paradoxus behafteten und eingegangenen Ferkels isolierter und je 1 aus Uterinsekret von menschlicher Puerperalsepsis und aus Wasser in der Prosektur des Krankenhauses gezüchteter und mir vom Prosektor Herrn Doz. Dr. Materna überlassener Stamm zeigte der Fohlen-, Menschen- und Ferkelstamm einige Abweichungen von einzelnen Literaturangaben, während der Wasserstamm normale Verhältnisse aufwies und zur Kontrolle diente. Ein 5. Stamm, ein aus dem vorerwähnten Ferkel isoliertes Bact. fluorescens liquefaciens, zeigte vorübergehende und endlich ein 6., von einem Falle intestinaler bazillärer Schweinepest stammender und mir von Herrn Tierarzt Dr. Werner in Graz überlassener Milchzucker-labiler inagglutinabler Suipestifer dauerndes Schleimbildungsvermögen.

A. Aërogenesstämme.

1. Wasserstamm.

Morphologie: Gramnegative (Loefflersches Karbolmethylviolett), coliähnliche ovale Kurzstäbchen, zahlreiche Doppelkeulenformen, welche an den eingeschnürten

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Enden zusammenhängen. Kapselbildung ist im Gram-Bild nur bei eingeschalteter Blende angedeutet, bei Oltscher Färbung ohne weiteres deutlich. Im hängenden Tropfen von einer Gaßnerschen Metachromgelbwasserblauplatte schwache Molekularbewegung. Innerhalb einer deutlich sichtbaren Kapsel liegen überwiegend: Diplobact. capsulatum (Mießner)-Formen (siehe Fig. 1). Daneben sieht man kokkenähnliche (Fig. 2) und bipolar strukturierte Gestalten (Bild 3), wobei die Polgegenden beim Auf- und Niederschrauben der Mikrometerschraube als helle, glänzende Kugeln erscheinen. Endlich gibt es noch Formen, die den Doppelkeulenbildern im Gram-Ausstrich entsprechen und die offenbar das Uebergangsstadium zwischen dem bipolar strukturierten und den Diploformen, also wahrscheinlich eine Zellteilungsphase, darstellen (Fig. 4).

Fig. 1 2 3 4

Kultur: Auf Agar und Gelatine — auf letzterer im Stich in Nagelkopfform und ohne Verflüssigung — üppig, auf Gaßner- uud Conradi-Drigalski-Platte schleimig und im Durchschnitt halbkugelig mit blauer bzw. schwach roter Verfärbung des Nährbodens. Nach längerem Wachstum auf der Drigalski-Platte erscheint die Kultur milchig getrübt, schließlich als formlos zerfließendes Wolkengebilde; auf der Gaßner-Platte zeigt sich innerhalb der farblosen Schleimglasurhülle eine Zeichnung spiralig-konzentrischer oder streifiger Schichten, die von Blaugrün bis Hellgelb und Weißgrau wechseln.

Biochemie: Mannit, Traubenzucker, Milchzucker (entsprechend dem Verhalten auf der Gaßner- und Drigalski-Platte), Rohrzucker und Malzzucker werden vergoren (Rotfärbung und Gerinnung der Lackmusnutroselösung). Gasbildung in Traubenzuckerbouillon $1^1/_2$ ccm im Gärröhrchen, in Milchzuckerbouillon gänzliche Anfüllung und Auftrieb des Gärröhrchens nach 24 Std. Rotbergerscher Neutralrotagar gelb entfärbt und stark zerklüftet. Indolbildung in 5—10tägiger Hottinger-Peptonbouillonkultur nach Ehrlich negativ, nach Kitasato-Salkowski positiv (nach Frieber handelt es sich hierbei allerdings um eine Indolessigsäure-, nicht um eine Indolreaktion), nach Morelli negativ.

2. Fohlenstamm.

Morphologie: Bipolar gefärbtes, ovales, in älteren Kulturen manchmal geblähtes und mit Vakuolen versehenes, relativ großes und plumpes Kurzstäbchen mit gramfesten Körnchen im Bazillenleib aus Kultur und Tierkörper. Hängender Tropfen: Aus den schleimigen Kulturen von der Gaßner-Platte angelegt, erscheint der Keim absolut unbeweglich, nicht einmal in Molekularbewegung, oft zu zweien hintereinander gelagert; aus gewöhnlicher Agarkultur erscheinen die meist singulären Stäbchen kürzer und weniger plump, fast kokkenartig und in lebhafter Molekularbewegung. Im abgeblendeten Gesichtsfeld ist deutlich die Kapsel der einzelnen Gebilde zu sehen. Stets sind innerhalb einer Kapselhülle bipolar gefärbte Einzelgestalten, Doppelkeulenformen, Diplo- oder selbst Triplobazillen zu unterscheiden. Die Zelleiber sind entsprechend den im Ausstrich grampositiv gefärbten Anteilen stark strukturiert. Die Polenden erscheinen beim Auf- und Abdrehen als stärker lichtbrechende Gebilde. Die Einzel-, die bipolarstrukturierten, sodann die Doppelkeulenformen und endlich die 2- und 3gliedrigen Bazillenverbände innerhalb der Schleimkapsel scheinen auch hier Stufen einer Entwicklungsreihe zu sein.

Kultur: Auf Agar ziemlich üppig mit leicht üblem Geruch. Gaßner-Platte: schleimige Kolonien mit Blau-, Drigalski-Platte: mit Rotfärbung. Nach 2—4 Tagen entstehen auf der Gaßner-Platte mächtige schleimige, graublaue Kugeln, innerhalb welcher sich der radiär gestreift hellgrüne Kulturrasen befindet, und die schließlich auf die Innenseite des Deckels der umgestürzten Petri-Schale herabfließen. Hottinger-Peptonbouillon: anfänglich gleichmäßige Trübung unter einer leichten Kahmhaut, nach

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

einigen Tagen Aufklärung und Bildung eines grobflockigen Bodensatzes. Gelatinestich ohne Verflüssigung in Nagelkopfform.

Biochemie: Lackmusnutroselösung mit Mannit-, Trauben-, Milch-, Rohr- und Malzzuckerzusatz nach 24 Std. gerötet und geronnen. Lackmusmolke gerötet, Neutralrotagar gelb und zerklüftet. Gasbildung in Milchzuckerbouillon reichlicher als in Traubenzuckerbouillon. Indolprobe nach Ehrlich und Kitasato-Salkowski negativ, nach Morelli spurweise positiv (?).

Pathogenität: Weiße Mäuse sterben in 12 Std., Meerschweinchen in 36 Std. nach intraperitonealer Impfung mit Bruchteilen einer Oese Kultur (Septikämie, hämorrhagische Peritonitis und Urethritis).

Das eigenartige Verhalten gegenüber der Gram-Färbung verdiente besondere Prüfung. Das Gesichtsfeld zeigt nebeneinander grampositive, gramnegative und Stäbchen, deren sonst gramnegative Substanz grampositiv granuliert und strukturiert ist. Besonders bei Ausstrichen von der Gassner-Platte sieht man die schon erwähnten Keulen-, Bläh- und Vakuolenbildungen in flügel- oder hofartigen, unscharf gerandeten und schwach fuchsinrot tingierten Schleimhüllen. Von gewöhnlicher Agarkultur ausgestrichen, färbt sich gleichfalls ein Teil der Stäbchen grampositiv, ein anderer gramnegativ; Blähformen, Vakuolen und Hofbildung fehlen meist. Gelegentlich sind Fäden zu beobachten. Das gleiche Bild zeigen Ausstriche aus Bouillonkulturen.

Der durch dieses bunte Bild nahegelegte Verdacht einer Verunreinigung wurde durch weitgehende Verdünnungskulturen und Tierimpfung ausgeschlossen. Das Farbbild blieb gleich. Bei Parallelfärbung echter gramnegativer und selbst der als Gram ± geltenden Rauschbrand- und Oedembakterien waren diese stets entfärbt. Endlich wurde die zur Gram-Färbung verwendete Loefflersche Karbolmethylviolettlösung durch Parallelfärbungen mit Anilinwassergentianaviolettlösung kontrolliert; mit dieser zeigte sich nun das vorliegende Aërogenes-Bakterium rein gramnegativ gefärbt. Eine prinzipielle Aenderung dieses beschriebenen Verhaltens konnte durch eine verschieden lange Einwirkung der Chemikalien nicht erzielt werden. Da das Loefflersche Methylviolett und das Gentianaviolett als Pararosaniline in ihrer Wirkung gleichwertig sind, und der als Beize dienende Karbol- und Methylenblauzusatz das Färbeergebnis der echten Gram-Negativen nicht beeinträchtigte, müssen besondere Verhältnisse im Protoplasma des Stammes dessen eigentümliche Zwischenstellung verursachen.

Membrandurchlässige Bakterien färben sich nach Eisenberg gramnegativ, membranundurchlässige positiv; die positive Färbung kommt nach Unna bei entsprechender Beschaffenheit des Zelleibs durch eine feste Bindung von Gewebe Pararosauilin + Jod zustande. Hottinger nimmt an, daß diese Bindung in den Nukleoprotoidkörnchen im Zelleib stets eintritt und je nach deren charakteristischer Verteilung durch die Lichtbrechung entweder ein grampositives oder -negatives Bild entsteht. Diesen Ansichten stimmt Kruse im wesentlichen zu, und hält es für erwägenswert, ob manche grampositive Bakterien gewisse Entwicklungtstadien haben, in denen sie, analog dem nicht säurefesten Stadium des Tbc-Bazillus (Much), nicht gramfest sind; auch absterbende Individuen sind leichter entfärbbar. Junge Individuen des Bac. pyocyaneus färben sich nach Gotschlich grampositiv und außerdem soll die Gram-Färbung durch Fett, Eiweiß, Stärkekleister gefördert, durch Säuren, Alkalien und Verdauungsfermente gehindert werden.

Für den Ausfall der Gram-Färbung werden also hauptsächlich Hülle und Struktur des Zelleibes verantwortlich gemacht. Diese Eigenschaften sind in der Regel konstant, scheinen aber bei manchen Arten labil und durch das Alter der Bazillenindividuen und das Medium beeinflußbar zu sein. Solche Arten werden gewöhnlich als gram-± angegeben. Aber auch innerhalb der sonst konstant grampositiven oder -negativen Gruppen wird es gewisse Abstufungen zwischen den 2 gegensätzlichen Polen geben, die unter dem Einfluß entartender Vorgänge rascher oder schwerfälliger die Neigung bekunden, von ihrem sonst konstanten Verhalten abzuweichen. Diese Abweichungen sind ebenso wie die scheinbar plötzlichen und grundlosen Veränderungen von konstanten

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Rassen als Variationen (nicht erbliche Modifikation und relativ erbliche Alternation im Sinne Toenissens) zu bezeichnen.

Die Frage, ob die Aërogenes-Bakterien als gramlabil im erörterten Sinn zu gelten haben, ist nach den Literaturangaben und auf Grund eigener Prüfung anderer Stämme zu verneinen. Auch der vorliegende Stamm kann nicht als gramlabil im obigen Sinne gelten, da gewisse Anteile des innerhalb der Kapsel liegenden Protoplasmas die Gram-Färbung bei Verwendung der Loefflerschen Farblösung auch nach ausgedehnter Entfärbung beibehielten. Diese Eigenschaft dürfte sich lediglich durch eine Ueberempfindlichkeit gegen die als Beize wirkenden Zusatzchemikalien erklären lassen. Vielleicht kommt auch die zweifellos primitive genetische Stufe der Aërogenes-Bakterien und eine damit zusammenhängende, unter gelegentlichen Einflüssen manifest werdende Neigung zu Variationen hier in Frage. Um diese Variationsfähigkeit zu prüfen, wurde der Fohlenstamm in 30 Generationen durch tägliche Abimpfung parallel auf Gassner- und Agarplatten fortgezüchtet. Hierdurch hat sich sein Verhalten gegenüber der Gram-Färbung nicht verändert; die zusammenhängende Substanz war teilweise grampositiv strukturiert oder in toto gefärbt. Dagegen hat einerseits die Schleimproduktionsfähigkeit im Laufe der Weiterzüchtnng auf der Agarplatte zugenommen, andererseits wurde die interessante Beobachtung gemacht, daß während der Fortzüchtung auf der Gaßnerplatte die Milchzuckerspaltungsfähigkeit des Stammes abgenommen hatte, so daß stellenweise die Blaufärbung nicht nur ausblieb, sondern an deren Stelle ausgesprochene Gelbfärbung auftrat.

Wilde hat bei der Aërogenes-Gruppe eine nach dem Nährboden veränderliche und schließlich beständig werdende Abänderung in der Schleimbildung beobachtet, wobei mit der Abnahme der Schleimproduktion eine morphologische Formveränderung der ursprünglich kugeligen und dicken Stäbchen zu kleineren und schlanken Formen einherging, die schließlich den Coli-Bazillen durchaus glichen. Lütje hat Beobachtungen über Mutationen von Paratyphus B und Aërogenes-Bakterien hinsichtlich der Gasbildung aus Milchzucker publiziert, die nach längerer Züchtung auf zuckerfreien Nährböden an Energie deutlich einbüßte. Diesen zwei Literaturangaben stehen meine eigenen Beobachtungen direkt entgegen: in den eigenen Versuchen wurde nicht eine Abnahme, sondern eine Zunahme der Schleimbildungsfähigkeit durch längere Fortzüchtung und weiter eine Abnahme der Milchzuckeraktivität nicht bei Fortzüchtung auf zuckerfreien, sondern bei ausschließlicher Züchtung auf der milchzuckerhaltigen Gaßner-Platte wahrgenommen. Dies müssen keine Widersprüche sein; auf die Inaktivitätsatrophie folgt zeitlich die Uebungshypertrophie und endlich wieder die Erschöpfungsatrophie; zeitlich differente Beobachtungsbedingungen können diese Widersprüche in den biologischen Eigenschaften erklären. Nach Th. Gruber schließlich entspricht einer Zunahme des Vermögens der Säuregärung eine Abnahme des Schleimbildungsvermögens. Dies findet, wenn auch im umgekehrten Sinne und gesondert für jeden Kulturstamm, eine Bestätigung in meinen Versuchen. Leider fehlt, da mir diese Literaturstelle erst nach Abschluß der Untersuchungen bekannt wurde, die gekreuzte Prüfung des Agarstammes auf der Gaßner-Platte und des Gaßner-Stammes auf Agar.

3. Menschenstamm.

Morphologie: Im Objektglas Ausstrich wie Coli; im hängenden Tropfen aus frischer Agarkultur lebhafte Molekularbewegung der nicht oder undeutlich bekapselten, bipolarstrukturierten oder in Diploformen aneinanderhängenden Stäbchen; aus schleimiger Gaßner-Kultur absolute Unbeweglichkeit. Die Bakterien sind kleiner als die des Fohlenstammes.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kultur: Auf der Gaßner-Platte in 1. Generation schleimig und halbkugelig, bei Weiterimpfung flach, fast trocken, weinblattartig. Gelatine wird langsam verflüssigt.

Biochemie: Entspricht völlig dem Bacterium coli A. Gasbildung in Traubenzuckerbouillon stärker als im Milchzucker. Indolprobe nach Ehrlich stark positiv. (Nach Morelli negativ.)

Auch dieser Stamm wurde parallel auf Agar- und Gaßner-Platten in 30 Generationen fortgezüchtet; eine Abänderung seiner biologischen Eigenschaften oder ein Rückschlag auf die schleimige Wuchsform wurde hierdurch nicht erzielt, nur die Einzelstäbchen erschienen etwas plumper. Wurde jedoch der Stamm nach Abschluß der Passagen einige Wochen auf Agar gehalten und hierauf neuerlich auf der Gaßner-Platte geprüft, so zeigte er plötzlich aufs neue die Fähigkeit, rings um die dunkelgrüne, fast trockene Kultur einen saftigen, schmalen, taubengrauen Wall vorzuschieben und aus diesem, basteiartig vorspringend, an einzelnen Stellen des Kulturrasens graublaue schleimige Halbkugeln zu bilden, welche bei Zimmertemperatur in einigen Tagen ineinander überflossen und eine zusammenhängende Schleimmasse bildeten. In der Folgezeit traten oft trockene und schleimige Stellen in der Kultur nebeneinander auf und auch bei Abimpfungen sowohl von den schleimigen als auch von den trockenen Stellen ergab sich immer das gemischte Bild. Die Eigenschaften der Gram-Entfärbung, der Gelatineverflüssigung und der Indolproduktion waren unverändert.

Während der Teilverlust der Zuckeraktivität des Fohlenstammes und vielleicht auch die kleine morphologische Veränderung des Menschenstammes wohl als nicht erbliche Modifikation aufzufassen sind, kann der plötzliche und künftig bewahrte Wiedererwerb der in der 2. Kulturgeneration verlorenen Schleimbildungsfähigkeit des Menschenstammes als progressive Alterationserscheinung im Sinne Toennissens gelten. Interessant ist beim letzteren Falle, daß die in Toennissens Sinne retrogressive Alterationsform der fehlenden Galaktanproduktion nicht aus alter Kultur, sondern schon bei der 2. Generation gewonnen wurde. Die zur Bestimmung des Variationstyps nötigen zahlreichen Tierversuche lagen nicht im Rahmen dieser Arbeit.

4. Ferkelstamm.

Morphologie: Gramnegative, plumpe, kurze Stäbchen mit deutlicher bipolarer oder segmentierter Färbung oder in Diplostellung. Den Hauptteil des Zelleibes nimmt eine ungefärbte oder ganz schwach tingierte Strukturbildung ein; mehrfach ist einseitige Polfärbung mit Vakuolenbildung zu beobachten, Doppelkeulenformen, wie beim Fohlen- und Wasserstamm, sind nicht vorhanden. Hängender Tropfen: deutliche Molekularbewegung, bekapselte, plumpe Kurzstäbchen meist in Diplo-, manchmal auch in Triplostellung, bipolare oder segmentierte Struktur.

Kultur: Auf Agar üppig, im Gelatinestich Nagelform ohne Verflüssigung. Auf der Gaßner- und der Conradi-Drigalski-Platte niederer, fast trockener Kulturrasen und stark schleimige Wallbildung. Nach weiterer Züchtung erschien die Kulturraupe und der gelappte Vorhof von einer im Durchschnitte halbkugeligen Schleimhülle überzogen. Also auch hier zunehmende Schleimproduktion nach längerer künstlicher Züchtung.

Biochemie: Verhalten in der bunten Reihe wie Bact. coli. Gasbildung: in Traubenzuckerbouillon nach 24 Std. $1^1/_2$ ccm, in Milchzuckerbouillon das ganze Gärröhrchen erfüllend.

Indolprobe nach Ehrlich schwach, aber deutlich positiv.

B. Annäherungsstämme.

6. Atypischer Suipestifer.

Morphologie: Gramnegative Stäbchen, $^1/_3$—$^1/_2$ so groß wie der Fohlen-Aërogenes-Stamm, diplokokkenförmig oder bipolar gefärbt, einzelne schwach strukturierte, längere Stäbchen, in älterer Kultur auch kurze und lange Fäden. Methylenblau-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

färbung läßt Schleimhülle erkennen. Hängender Tropfen: Sehr kleine und kurze bipolar oder segmentiert strukturierte oder in Diplostellung befindliche Stäbchen mit angedeuteter Aureole in schwacher Molekularbewegung.

Kultur: Agar: üppig schleimiges Wachstum, Gelatine: ebenso ohne Verflüssigung; Cantani-Agar: starke Wallbildung. Drigalski- und Gaßner-Agar: starke Wallbildung mit nachfolgender oder von vornherein einsetzender starker Schleimumhüllung der Kulturraupe.

Biochemie: Hetsch und Barsiekow I in 24 Std., Malzzuckerlackmusnutroselösung in 48 Std. geronnen, Barsiekow II nach 5 Tagen schwach gerötet, nach 2—3 Wochen milchig getrübt, Rohrzucker unverändert, Lackmuslösung gerötet. Gasbildung: in Traubenzuckerbouillon Spur, in Milchzuckerbouillon 0. Neutralrotagar gelblich aufgehellt, Indol nach Ehrlich negativ. Entsprechend dem Barsiekow II, zeigt die Gaßner-Kultur neben der an Stellen dichten Wachstums blauen Färbung stellenweise gelbe Aufhellung. Bei Abimpfung von den hellgelben Stellen und weitgehender Verdünnung des Kulturmaterials entsteht immer wieder das gleiche gemischte Farbphänomen. Innerhalb der glasig durchsichtigen Schleimbildung liegt die eigentliche hell bis blaugrüne Kultur mit gläserbürstenartiger Zeichnung oder es liegen die hellgrünen Kolonien napfartig in einem dicken, glasig durchscheinenden Wall eingebettet.

In dei Tiermedizin scheinen relativ häufig miichzuckerlabile Arten der Coli-Typhusgruppe pathogen zu wirken; sie wurden gelegentlich und wenig überzeugend als Coli-Paratyphus bezeichnet. Der vorstehend beschriebene Stamm ist weder durch Paratyphus B-, noch durch Suipestifer-Serum agglutinabel, gehört aber nach seinem epidemiologischen und biochemischen Verhalten zweifellos zu den Angehörigen der Suipestifer-Kunzendorfgruppe.

6. Atypisches Bact. fluorescens liquefaciens.

Morphologie: Gramnegative solid oder strukturiert gefärbte Kurzstäbchen. Hängender Tropfen: von Gaßner-Platte verschieden lange, völlig unbewegliche Stäbchen, bipolar oder segmentiert oder aus 2—3 kokkenähnlichen Gebilden innerhalb einer deutlichen Schleimhülle znsammengesetzt.

Kultur: Agar üppig. Gaßner-Platte: in 1. Generation dauernd gelb aufhellendes, schleimig halbkugeliges Wachstum mit hellgrüngelben, flocken- und streifenförmigen Verdichtungen im Kulturrasen und glasheller Schleimperipherie. Bei weiteren Generationsfolgen verlor sich die Schleimbildungsfähigkeit völlig, während gleichzeitig nunmehr eine allmählich zunehmende Bläuung der Gaßner-Platte zu beobachten war. Im Gelatinestich tritt vom 4. Tage an langsame Verflüssigung auf.

Biochemie: Hetsch-Lösung 1 Woche unverändert, hierauf mißfärbig weiß-gelbblau. Barsiekow I nach 4 Tagen geronnen, Barsiekow II, Rohr- und Malzzuckerlösung nach 4—6 Tagen gebläut, starke Kahmhaut. Neutralrotagar unverändert. Indolprobe nach Ehrlich negativ.

Der bereits von Th. Gruber beobachtete Zusammenhang zwischen dem Verlust des Schleimbildungsvermögens und dem gleichzeitigen Erwerb von Milchsäurereaktivität ist hier offenkundig. Diese neuen Eigenschaften blieben auch bei Weiterzüchtung konstant.

Zusammenfassung.

Von 4 geprüften Aërogenes-Stämmen zeigte 1 Wasserstamm normale Verhältnisse: gramnegativ, bekapselt, schleimbildend, nicht Gelatine verflüssigend, biochemisch den Colibakterien gleich, aber kein Indol bildend. 1 Fohlenstamm war teilweise gramfest, 1 Menschenstamm verflüssigte Gelatine und bildete, ebenso wie 1 Ferkelstamm, Indol. Ein

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

atypischer Suipestifer und ein Bact. fluorescens liquefaciens näherten sich der Aërogenes-Gruppe durch ausgesprochene Schleimhülle in der Kultur.

Die morphologischen Verhältnisse lassen meist eine Entwicklungsreihe von den bekapselten, kokkenähnlichen Einzelkeimen über die bipolar strukturierten und segmentierten Formen zu den Doppelkeulenbildern und endlich zu ausgesprochenen Diplo- und Triploverbänden erkennen. Der Fohlenstamm besaß auffallend große Individuen und zeigte gelegentlich, ebenso wie der Ferkelstamm, Vakuolen- und Blähformen.

Die Beweglichkeit der Aërogenes-Bakterien im hängenden Tropfen ist von der Schleimbildung der Ausgangskultur abhängig; von stark schleimigen Kulturen abgeimpft, erscheinen sie absolut unbeweglich, sonst in Molekularbewegung.

Das Schleimbildungsvermögen tritt besonders bei Zimmertemperatur, weniger stark im Brutofen, wo die Flüssigkeit rasch verdunstet, auf, und kann im Laufe der künstlichen Weiterimpfung zunehmen (Fohlen- und Ferkelstamm), es kann aber auch unmittelbar nach der Isolierung aus dem Tierkörper verloren gehen, um nach wochenlanger Umzüchtung wieder zu erscheinen (Menschenstamm), oder überhaupt dauernd in Verlust geraten (Bact. fluorescens liquefaciens).

Gleichzeitig mit der Zunahme der Schleimbildungsfähigkeit kann die Milchzuckeraktivität abnehmen (Fohlenstamm) oder umgekehrt mit der Abnahme der Schleimbildungsfähigkeit zunehmen (Bact. fluorescens liquefaciens).

Gemeinsam ist den 4 Aërogenes-Stämmen lediglich die nicht stets prompt auftretende Schleimbildung in der Kultur, die nicht immer deutliche Kapsel im gefärbten Ausstich und hängenden Tropfen und die regelmäßig dem Bac. coli gleiche Aktivität in der bunten Reihe.

Es gibt also neben den typischen Stämmen auch grampositive, die nicht Gelatine verflüssigen, ferner gramnegative, Gelatine verflüssigende und Indol produzierende Stämme und endlich Annäherungsstämme, die ganz anderen Gruppen angehören und sich lediglich durch ihre Schleimbildung in Kulturen der Friedländer-Aërogenes-Gruppe anschließen.

Bei allen 6 Stämmen war in schleimigen Kulturen, wenn auch nicht immer deutlich, durch Besichtigung des hängenden Tropfens und des gefärbten Ausstriches, entgegen der Angabe Strongs, Aureolenbildung nachweisbar.

Literatur.

Abel, Bakteriol. Taschenbuch. — Abel u. Hallwachs, in Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 6. 1912. — Eisenberg, in Weichardts Ergebn. d. Immun.-Forschung. Bd. 1. 1914. — Frieben, Centralbl. f. Bakt. Abt. I.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Orig. Bd. 87. 1921. — Heim, Lehrb. d. Bakt. 1918. — Hopffe u. Hartmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. — C. O. Jensen, in Kolle-Wassermann, Bd. 5. — Kruse, Allgem. Mikrobiologie. 1910. — Kruse, in Friedberger-Pfeiffer, Lehrb. d. Mikrobiol. Bd. 2. — Lehmann-Neumann, Bakt. Diagnostik. Bd. 2. — Lütje, Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1923. Nr. 19. — Mießner, Oppermann u. Lütje, Die Geißeln der Pferdezucht. Hannover 1922. — Neißer, in Friedberger-Pfeiffer, Mikrobiologie Bd. 2. — Toennissen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. H. 5.

Nachdruck verboten.

Serodiagnostik der aktiven Tuberkulose mittels Komplementbindung mit den Antigenen Besredkas sowie von Nègre und Boquet[1]).

[Aus dem Zentrallaboratorium des Hauptmilitärsanitätsamtes der R.S.F.S.R. zu Moskau (Direktor: Dr. A. P. Saweljew).]

Von Dr. **A. N. Ginsburg** und **W. Th. Schuwalow.**

Wir möchten hier über unsere Resultate der Serodiagnose der Tuberkulose mittels der Komplementbindungsreaktion berichten. Die dieser Frage gewidmeten neuen Arbeiten von Rabinowitsch-Kempner, Nègre und Boquet, Urbain und Fried, Besredka, Ichok, Fritz v. Gutfeld und Edith Weigert, Wassermann u. a. dürfen wir als bekannt voraussetzen.

Anfangs Januar 1923 haben wir unsere Arbeit mit dem Besredkaschen Antigen (flüssige Tbc-Kultur auf Besredkaschem Eidotterboden) und mit dem Antigen von Nègre und Boquet (Methylextrakt) begonnen. Von großer Wichtigkeit bei der Bereitung des Antigens von Besredka ist die Herstellung des Nährbodens, auf dem der Tuberkelbazillus sehr gut und schnell wächst. Unsere 4-täg. Antigene waren nicht gut, weil sich unsere Tbc-Stämme in so kurzer Zeit nicht genügend entwickeln konnten, dagegen waren unsere 8-täg. Antigene sehr spezifisch, weswegen wir sie bei der ganzen Arbeit benutzten. Um das wertvolle Methylextrakt nach Nègre und Boquet zu erhalten, ist streng darauf zu achten, daß der Methylalkohol rein von Azeton und 99° stark ist. Von diesen, von uns hergestellten Antigenen wurden alsdann zunächst die sogenannten „alleinhemmenden" Dosen für das hämolytische System bei der Komplementbindung bestimmt, wobei wir genau wie bei der Serodiagnostik der Syphilis verfuhren. Sie betrugen für das Besredka-Antigen 1 ccm und für den Methylalkoholextrakt 0,5 ccm bei Verwendung der sogenannten $^1/_2$ Dosen. Folgende Tabellen veranschaulichen einen solchen Versuch.

Zu dem Hauptversuche wurde dann die Hälfte dieser, kaum eine Lösung gestattenden Dosis verwendet.

Dann wurde das Verhalten der Antigene aus vielen Tbc- und normalen Seren geprüft, wobei die Antigen in ihren Titerdosen und die Sera in den Dosen von 0,2 ccm, wie es Besredka rät, gebraucht wurden.

1) Nach Vortrag, gehalten auf dem 2. Allrussischen Tuberkulosekongreß in Moskau, den 30. Mai 1923.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 1.

Bestimmung der Eigenhemmung des Besredka-Antigens, Kompl. 1:20 — 1/2 Dosen.

Antigen Besredka	NaCl	Kompl. 1:20	Nach 1 Std. das sensibil. hämol. Syst.	Resultat
0,05	0,95	0,5	1 ccm	—
0,1	0,9	0,5	1 „	—
0,2	0,8	0,5	1 „	—
0,4	0,6	0,5	1 „	—
0,6	0,4	0,5	1 „	+
0,8	0,2	0,5	1 „	++
1,0	—	0,5	1 „	++++

Tabelle 2.

Bestimmung der Eigenhemmung des Antigens Nègre und Boquet Kompl. 1:20 — 1/2 Dosen.

Antigen N. und B.	NaCl	Kompl. 1:20	Nach 1 Std. das sensibil. hämol. Syst.	Resultat
0,025	0,975	0,5	1 ccm	—
0,05	0,95	0,5	1 „	—
0,1	0,9	0,5	1 „	—
0,2	0,8	0,5	1 „	±
0,4	0,6	0,5	1 „	++
0,5	0,5	0,5	1 „	++++

Nachdem die Antigene erprobt waren, gingen wir zur Reaktion in großem Maßstabe über. Die tuberkulösen Seren wurden aus der Tuberkuloseabteilung der 3. Moskauer Universität, aus den Moskauer Hospitälern, aus Kliniken und Ambulanzen bezogen. Eine große Anzahl der Seris, die von Wassermann-Reaktionen zurückgeblieben waren, wurden zur Prüfung der Reaktionen von Besredka und Nègre und Boquet verwendet, um den Prozentsatz der Luesserahemmung zu bestimmen. Immer wurden alle auf Tbc zu analysierenden Sera parallel nach Wassermann untersucht.

Die erste Zeit haben wir alle unsere Versuche nach der Calmetteschen Technik, wie dies Besredka auch macht, durchgeführt; der Umstand aber, daß zu einer Reaktion mindestens 3,5 ccm Sera (8—10 ccm Blut) erforderlich waren, erschwerte die Arbeit sehr und machte sie fast unmöglich. Dem Rate des Direktors des Laboratoriums, des Herrn Dr. Saweljew, folgend, versuchten wir, die Technik der Reaktion so zu modifizieren, daß die Serummenge vermindert wurde, ohne die Spezifität der Reaktion zu stören.

Wir haben 92 Tbc-Sera parallel nach der Calmetteschen und Wassermann-Neißer-Bruckschen Technik erprobt und gleiche Resultate bekommen. Wir arbeiteten mit 1/2 Dosen, nahmen aber für jedes Probierröhrchen 0,2 ccm des inaktivierten Serums. Das Komplement werteten wir im Vorversuch aus, und seine Arbeitsdose verwendeten wir im eigentlichen Hauptversuch, indem wir 2 Antigene (Besredka und Nègre und Boquet) gebrauchen. Auf diesem Wege sparen wir sowohl Reaktionsingredientien wie auch Zeit, wie nachfolgende Tabelle beweisen soll.

Unsere Antigene geben gleiche Resultate; sie arbeiten ganz identisch sogar in Fällen mit ++ und +.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 3.

		Serum 1	Serum 2	Bemerkungen
Kontrolle des Serums	Ser. inaktiv. Kompl. NaCl	0,2 Arbeitsdose bis 1,5 ccm	0,2	Nach 1 Std. bei 37°, in jedes Röhrchen kommt 1 ccm des sensibil. hämolytischen systems
Kontrolle nach WaR.	Ser. inaktiv. WaR.-Antigen Kompl. NaCl	0,1 Titerdose Arbeitsdose bis 1 5 ccm	0,1	
Antigen Besredka	Ser. inaktiv. Besredka-Antigen Kompl. NaCl	0,2 Titerdose Arbeitsdose bis 1,5 ccm	0,2	
Antig. Nègre u. Boquet	Ser. inaktiv. N. und B.-Antigen Kompl. NaCl	0,2 Titerdose Arbeitsdose bis 1,5 ccm	0,2	

Die Untersuchungen umfassen 445 Sera, von denen nur die ersten 92 nach der Calmetteschen und parallel nach der von uns gebrauchten Technik angestellt worden waren und übereinstimmende Resultate gezeigt hatten. Mit allen folgenden Seris aber arbeiteten wir nach der in Tab. 3 beschriebenen Technik. Unsere Resultate sind in Tab. 4 niedergelegt.

Tabelle 4.

		4 + 3 +	2 + 1 +	±	negativ	im ganzen	% +	% —	Bemerkungen
Lungentuberkulose	Die Initialtuberkulose ohne Tbc-Bazillen im Sputum	16	6	2	5	29	76	17,3	Die 3. Rubrik ± ist nicht in der Prozentausrechn. inbegriffen
Lungentuberkulose	Peribronchialdrüsen Tbc (Röntgen)	16	4	1	2	23	90	0,9	
Lungentuberkulose	Klinisch. Diagn. Tbc (verschied. Stadien und verschied. Prognosen) Tbc-Bazillen im Sputum	174	72	6	14	266	92,5	5,2	
Lungentuberkulose	Sera von Patienten, die früher an aktiver Tbc litten, jetzt (2—4 Jahre) sich gesund fühlen	2	10	2	38	52	23	73	
	Chirurgische Tbc (Coxitis)	4	2	—	—	6	.	.	
	Augen-Tbc (Uveitis, Keratitis)	2	2	—	—	4	.	.	
	Sera von jungen Bauern, die nie tbckrank waren	1	—	—	59	60	1,6	98,4	
	Andere Krankheiten, Tbc ausgeschlossen	—	1[1]	—	4	5	.	.	

Die WaR.-positiven Luessera haben bei uns mit dem Besredka-Antigen viel mehr positive Ausfälle der Reaktion als bei Besredka selbst gegeben, sind aber nicht in dieser kleinen Statistik angezeigt.

1) Diphtherie.

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Aus der Tabelle ersieht man, daß die Serodiagnostik der aktiven Tuberkulose mittels Komplementbindungsreaktion mit den Antigenen von Besredka und Nègre und Boquet ganz zuverlässige und wertvolle Resultate gibt und zur Diagnostik der aktiven Tbc aller Arten und Stadien verwendbar sein kann.

Diese von uns hergestellten Antigene wurden auch in der Moskauer Klinik von Prof. Dr. Kontschalowsky geprüft, wo Assistenzarzt Dr. E. Kost die Reaktion anstellte, und mit den Resultaten, die ganz mit der klinischen Diagnose übereinstimmten, sehr zufrieden war.

Die Prüfung der Sera nach Wassermann — Vorschlag, den Fritz v. Gutfeld und Edith Weigert machen — haben wir von Anfang unserer Arbeit als unentbehrlich vorgenommen. Die 2. Kontrolle dieser Autoren — unbeimpfter Beredkaschen Nährboden als Antigen, mit dem sie selten, aber doch, nicht spezifische Hemmungen mit den Tbc-Sera erhielten, haben wir mit 100 Seris am Anfange unserer Arbeit vorgenommen — aber immer Hämolyse bekommen. Trotzdem wir in den letzten Tagen diese Hemmung erneut prüften, blieben die Resultate wie die vorigen.

Die kleine Zahl unserer Erfahrungen gibt uns eigentlich kein Recht, kategorische Folgerungen zu ziehen. Aber da unsere Ergebnisse denen der ausländischen Autoren analog sind, schließen wir uns den Zusammenfassungen Besredkas und Nègre und Boquet an.

Schließlich erlauben wir uns, dem hochverehrten Herrn Dr. Saweljew, Direktor des Laboratoriums, für seine wertvollen Anleitungen unseren aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

Rabinowitsch-Kempner, L., Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 2. — Nègre et Bouquet, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 35. 1921. — Urbain et Fried, ibid. T. 35. 1921. — Gutfeld v., Fritz, u. Weigert, Edith, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. H. 3. — Besredka, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 35. 1921. — Uglow-Woenn, Med. Journ. 1915. H. 242. [russ.]. — Ichok, Ztschr. d. Tbc. Bd. 37. 1922. H. 1. — Belanowski, Immunität ü. Tuberkulose. Moskau 1922. Gosisdat russ.] — Wassermann, Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 9.

Nachdruck verboten.

Aendert sich der Paratyphus A-Bazillus durch Tierpassage?

Beiträge zur Theorie der Agglutination.

[Aus dem Institut für Allgemeine Pathologie und Therapie der Universität in Szeged, Ungarn (Vorstand: Prof. v. Lőte).]

Von **A. v. Jeney**, Assistenten am Institut.

In einer (1) meiner früheren Arbeiten habe ich auf Grund meiner Erfahrungen, sowie jener von Galambor (2) die Frage aufgeworfen, ob nicht der Bacillus paratyphi A den Typus humanus der Paratyphusgruppe vorstellt, ferner ob nicht die Paratyphusarten im engeren Sinne, welche wegen ihrer Form, Färbbarkeit und Wirkungsweise zu der Gruppe des B. septicaemiae haem. zu rechnen wären, bloß eine humanisierte Form der letztgenannten Bakteriengruppe vorstellen?

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beim Durchsehen der Paratyphusliteratur der letzteren Zeit findet man allgemein die Ansicht vertreten, daß der Paratyphus A nur durch Kontakt von einem Menschen auf den anderen übertragen werde und meist im Bilde des Typhus abdominalis abläuft [Stintzing (3), Silbiger (4), Sluka und Strisower (5), Lehmann (6)]. Paratyphuu A-Bazillen wurden in der Außenwelt so gut wie niemals gefunden [Schweinburg (7)]. Von Tieren stammende Paratyphus A-Bazillen können bei vollständig gleichem kulturellen Verhalten sich gegen Immunserum, welches mit menschlichen Paratyphus A-Bazillen hergestellt wurde, vollständig refraktär verhalten (Uckermark (8)]. Derselbe Autor sagt: „Die Frage, inwieweit echte Paratyphus A-Bazillen bei Tieren vorkommen, bedarf noch der Klärung." Wagner und Emmerich (9) haben an Kaninchen und Meerschweinchen Experimente mit B. paratyphi A vorgenommen und waren nur einmal imstande, an einem Kaninchen eine chronische Cholecystitis und Cholelithiasis hervorzurufen. Mit B. Paratyphus B hingegen konnten sie in der Mehrzahl der Fälle an ihren Tieren eine der menschlichen Fleischvergiftung ähnliche Erkrankung erzeugen. Schmitz und Kirschner (10) vermochten niemals Paratyphus A-Stämme mittels Typhus-, Paratyphus B oder Gärtner-Immunserum zu agglutinieren. Das Serum von an Paratyphus A-Leidenden zeigte sehr hohe Agglutination (1:40000). Zu einem ähnlichen Resultate war auch ich gekommen (1). Nach den Untersuchungen Uckermarks agglutinierten Paratyphus A-Bazillen nur bei 1:100—200 mit Seris von Typhus, Paratyphus B, Coli und Faecalis alcaligenes. Die Eigenschaften des Paratyphus B werden von den meisten Autoren als sehr labil bezeichnet, wogegen Typhus und Paratyphus A mehr Stabilität zeigen. Nach Burow ist der Bacillus Paratyphus A vielmehr ein proteinophiles Bakterium, als B. paratyphi B oder Coli. Seine Enzymwirkung ist auch deshalb geringer, als bei den anderen beiden.

Der B. paratyphi A unterscheidet sich also nicht nur dadurch von den anderen Paratyphussorten, daß er keine Saprophyteneigenschaften zeigt, sondern auch dadurch, daß er im praktischen Sinne für Tiere nicht pathogen ist, sich von einem Menschen auf den anderen durch Kontakt verbreitet, sein Rezeptorenapparat selbständig ist, ferner dadurch, daß er mit anderen Paratyphusgruppen, sowohl was seine agglutinogene Wirkung, als auch sein Agglutininbindungsvermögen anbelangt, nur wenig verwandt ist.

Wir müssen uns daher fragen, ist der Paratyphus A-Bazillus nicht eine selbständige Bakterienart?

Lehmann (39), welcher in Vorderindien, Holländ.-Indien und Nordafrika bei fiebernden Kranken sehr oft Paratyphus A-Bazillen nachweisen konnte, teilt mit, daß das Ueberstehen von Typhus oder Paratyphus B nicht gegen Paratyphus A immunisiert. Er fordert daher, daß gegen Paratyphus A eigene Schutzimpfungen vorzunehmen seien, und will für diese Sondergruppe einen neuen Namen geprägt wissen.

Courmont und Chattot (15) schreiben: Aus dem Blute eines gegen Typhus geimpften und fieberhaft erkrankten Soldaten konnten Paratyphus B-Bazillen kultiviert werden. Nach 1 Monate erkrankte er neuerdings, wobei im Blute Paratyphus A-Bazillen zu finden waren. Das Ueberstehen von Paratyphus B immunisierte also nicht gegen Paratyphus A. Aus dieser Mitteilung ist noch zu entnehmen, daß Paratyphus B- und A-Agglutinine nebeneinander voneinander unabhängig entstehen und wieder verschwinden können. Die Mitteilung von Bradley (23) dürfte wohl nicht imstande sein, diese beweisenden Daten zu entkräften. Bradley war nämlich mittels biochemischer Reaktion nicht imstande, Paratyphus B-Bazillen von Paratyphus A-Bazillen zu trennen, und zwar wegen des Auftretens von Uebergangsformen.

Daraus folgt, daß man die Sonderstellung des Paratyphus A-Bazillus anerkennen muß, und zwar nicht nur in Anbetracht obiger Erscheinungen, sondern auch wegen seiner pathogenen Wirkung auf den Menschen. Ist es aber recht, den B. Paratyphus A eben wegen dieser seiner Eigenschaften als eigene Art anzusehen, welche auch einen eigenen Namen verdient? Ist die Sonderstellung mit der abweichenden serologischen Wirkung, mit der sich auf gewisse Tierarten beschränkenden Pathogenität genügend begründet? Geht es an, daß ein Bakterium aus obigen Gründen von anderen Bakterien, welche der Form und dem kulturellen Verhalten nach mit ihm im großen und ganzen übereinstimmen, abgetrennt wird? Lehmann (40) erklärt auf Grund der Arbeiten zahlreicher Forscher auf dem Gebiete der Mutationstheorie (de Vries, Neißer, Massini, Eisenberg, Johannsen, Benecke, Bernhardt, Jollos, Csernel, Toenniessen (17), Grote, Baerthlein (19, 20), Beyerinck (25), Schmitz, Revis, Plates, Baur, Burri, Webber), daß Bakterien unter gewissen Bedingungen Eigenschaften annehmen können, welche ihnen früher abgingen, und welche sie dauernd, auch Jahre hindurch, beibehalten und auf ihre Nachkommen überpflanzen können.

Daß eine Aenderung der Lebensverhältnisse — wenigstens bei Protozoen — auch eine Formveränderung zur Folge haben kann, zeigte uns Werbitzki (35) an dem Beispiel, daß bei pyroninfest gewordenen Trypanosomen der Blepharoblast verschwinden kann.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bernhardt und Ornstein (31) fanden tiefgreifende Aenderungen bei gewissen Bakterienstämmen, so daß weder morphologisch noch biologisch ein Zusammenhang mit dem Bakterium des Ausgangsstammes nachzuweisen war und somit ein neuer Typus entstanden zu sein schien. Diese Forscher halten daher das Entstehen neuer Arten für möglich. Klein (32) hingegen sieht in dem Zustandekommen von neuen Eigenschaften bloß einen Atavismus. Nach Baerthlein (20) unterscheiden sich die unter verschiedenen Einwirkungen entstandenen Varianten: 1) durch die Form der einzelnen Bakterienindividuen, 2) durch das Aussehen der alleinstehenden, unbeeinflußt sich entwickelnden Kolonien, 3) durch das kulturelle und serologische Verhalten der von den einzelnen Varianten abstammenden Stämme. Derselbe Autor sagt ferner, daß Mutationserscheinungen nicht nur in der Außenwelt, auf künstlichen Nährböden, sondern auch im Tierkörper vor sich gehen und nicht nur besagte Eigenschaften, sondern auch die Virulenz der Bakterien mit anderen Eigenschaften zusammen oder unabhängig von diesem der Variabilität und den Gesetzen der Vererbung unterworfen sind.

Wie groß die Veränderungen sein können, welche ein Bakterium beim Durchwandern durch den Organimus erfährt, darüber berichtet G. Mayer (33): Während einer aus einer Fischvergiftung ausgehenden Paratyphusepidemie bemerkte er nämlich, daß die aus dem Erbrochenen gezüchteten Paratyphusbazillen nicht agglutinabel waren, sondern nur die aus dem Stuhle kultivierten, welche mit dem Organismus schon in Wechselbeziehung gewesen waren; diese aber konnten mit sehr stark verdünntem Immunserum agglutiniert werden. Mayer nimmt an, daß diese Paratyphusstämme für den Menschen gefährlicher sind als die vom Schwein, von der Maus usw. stammenden, durch Tierpassage abgeschwächten Paratyphusstämme. (Es ist anzunehmen, daß das von diesem Forscher verwendete Agglutinationsserum mit von Menschen stammenden Paratyphusstämmen erzeugt worden war.)

Die umformende Wirkung des lebenden Organismus auf Bakterien wurde mittels exakter Experimente von Schmitt (27) untersucht, welcher auf Grund der Beobachtungen von Sobernheim und Seligmann die Umwandlung des B. paratyphi B (Flügge) in B. enteritidis Gärtner nachzuweisen beabsichtigte. Er immunisierte 5 säugende Kälber mit einem lebenden Flügge-Stamm. Am 2.—3. Tage von der Stelle der Impfung gezüchteten Flügge-Stämme agglutinierten so wie ein Gärtner-Stamm. Je länger der Stamm im Organismus verweilte, desto weniger wurde er vom hochwertigen Flügge-Serum agglutiniert. Solange aus dem Blute gezüchtete Passagestämme eine Flügge-Agglutination zeigten, waren auch die Agglutinine des Serums Flügge-Agglutinine. Mit einem Flügge-Passagestamm, welcher Gärtner-Agglutinine band, konnte Schmitt mit längerer Immunisierung ein Kälberimmunserum erzeugen, welches Gärtner-Agglutinine enthielt. Er war imstande, mit einem Flügge-Stamm Serum zu erzeugen, welches sowohl Flügge- als auch Gärtner-Stämme agglutinierte. Von den inzwischen gezüchteten Passagestämmen waren schon die ersten wie wirkliche Gärtner-Stämme agglutinabel, d. h. zuerst änderte sich das Agglutininbindungsvermögen der Bakterien und dann erst ihre agglutinogene Wirkung.

Daß Bakterien im lebenden Gewebe unter starker Variationsreizwirkung stehen können, ist auch daraus ersichtlich, daß frisch aus dem Organismus gezüchtete Bakterienkolonien eine Verschiedenheit der Formen schon auf der ersten Platte zeigen, wie wir sie sonst erst bei alten Kulturen zu sehen gewohnt sind [Gildemeister (16)]. Es ist dies verständlich, wenn man bedenkt, daß im Organismus nicht nur die Stoffwechselprodukte der Bakterien, welche ja bei künstlicher Züchtung den größten Reiz zur Entwicklung von Variationen bilden, zur Geltung kommen, sondern auch der Biochemismus des Organismus mit all seinen verschiedenen Abwehrkörpern. Da nun dieser Biochemismus bei verschiedenen Tiergattungen ganz verschieden ist, ist auch der Variationsreiz bei verschiedenen Tiergattungen ein anderer.

Daß die stark verbreiteten und sehr labilen Paratyphusarten starke Variationen aufweisen, ist aber nach alledem leicht verständlich. [Siehe von der einschlägigen Literatur: Fürst (12), Danysz (11), van Loghem (13), Tsokalotor (36), Baerthlein (37), Bahr (14), Gildemeister (16), Schmitz (18), Reiner-Müller (21), Baerthlein (28), Roček (38), Haendel (24), Schmitt (27).

Wenn wir nach alledem untersuchen wollen, wie sich der mit einem selbständigen Rezeptorenapparat versehene proteinophile und humanophile, nicht saprophyte Paratyphus A-Bazillus verhält, welchen morphologischen und serologischen Veränderungen er ausgesetzt ist, wie sich seine Virulenz ändert, wenn er eine Tierart zu wiederholtem Male passiert, wenn wir wissen wollen, wie wir ihn am raschesten seines „A"-Charakters eventuell berauben könnten, so müssen wir uns fragen, welche Tierart wir zu unseren Untersuchungen zu wählen haben?

Wenn wir an das in meiner früheren Arbeit gesteckte Ziel denken, so müssen wir uns sagen, daß eine Tierart zu wählen ist, für welche Paratyphus B pathogen ist. Ein solches Tier ist die graue Hausmaus. Rubinstein (34) konnte zwar bloß junge

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mäuse per os mit Paratyphus B-Bazillen infizieren. Es ist aber zu erwähnen, daß Momose (22) den Mäusetyphusbazillus vom B. paratyphi B nur mit der Castellanischen Methode unterscheiden konnte. Ebenso war Nishino (26) nicht imstande, den Mäusetyphusbazillus von dem Danysz und Mereschowskyschen Bazillus mittels biologischer Reaktion, Agglutination oder mit der Absorptionsmethode zu unterscheiden. Den Mäusetyphusbazillus konnte er hingegen vom Paratyphus B-Bazillus mittels der Absorption unterscheiden.

Wenn auch die Maus in dieser Beziehung Vorteile bietet, so erfordert andererseits die bei der Maus vorkommende Paratyphus B-Infektion besondere Vorsicht. Es wurde auch deshalb schon gefordert, den Darmtraktus der Maus vor den Experimenten auf Paratyphusbazillen zu untersuchen. Doch kann auch bei negativem Resultat später dennoch eine neue Infektion hinzutreten. Außerdem würde eine derartige Untersuchung der Maus die Gefangenschaft der Maus wesentlich verändern, welche dieses unruhige Tier schwer vertragen würde. Es könnte dann vielleicht, wie bei übermüdeten Rindern, eben durch eine Verlängerung der Gefangenschaft eine Spontaninfektion auftreten. Ich hielt es daher für zweckmäßig, Tiere für die Experimente zu benutzen, welche kurz vorher (einige Stunden bis 1 Tag) gefangen waren. Bei unseren Versuchen wurde dem Organismus Paratyphus A-Kultur in solch großen Mengen einverleibt, wie sie nach den Vorversuchen innerhalb 24 Std. das Tier unbedingt töten mußten. Auf diese Weise war der Zusammenhang zwischen der Injektion und dem Tode des Tieres evident. Zur Herstellung des Immunserums wurde ein „Klonstamm“ einer einwandfreien Paratyphus A-Kultur benutzt. Die Injektionen wurden an der Schwanzwurzel vorgenommen mit vorsichtiger Vermeidung der Analgegend. Unsere Tiere starben nach 8—24 Std. Diese Zeit scheint für das Zustandekommen der Wechselbeziehung zwischen Tier und Mikroorganismus etwas gering, doch wählte ich lieber diesen Fehler, als mich der Gefahr einer Spontaninfektion mehr auszusetzen; ferner war anzunehmen, daß sich auf diese Weise die Veränderungen langsam entwickelten. Wenn der Tod nach 24 Std. nicht eingetreten war, wurden die Tiere mittels Chloroform getötet und nach ihrem Tode unter entsprechenden Kautelen seziert. Nachdem das Herz im ganzen in eine Galleröhre gelegt worden war, wurde aus dieser nach 8—12 Std. eine Kultur auf Schrägagar angelegt. Unsere Kultur hat sich immer als einwandfreie Reinkultur erwiesen. Nach der Probeagglutination wurden die Passagestämme in absteigenden Mengen auf Mäuse weitergeimpft. Zur Identifizierung des gezüchteten Stammes verwendete ich zweierlei Paratyphus A-Immunsera: einmal ein homologes Immunserum (Institut „Pápai“), ferner ein mit dem „Klonstamm“ hergestelltes isologes Kaninchenserum („Klonserum“). Verdünnungen nahe der Titergrenze. Gleichzeitige Untersuchung auf Agglutination mit Typhus- und Paratyphus B-Serum. Ablesen nach 2 und 24 Std.

Es läßt sich nachweisen, daß der 1. Passagestamm eine anfangs nur schwer und erst nach einer Nährbodenpassage gut agglutinable Variante darstellt. Die Stämme Nr. IX—XV sind ganz inagglutinabel und bleiben dies auch bei unverändertem biologischen Verhalten 7 Generationen hindurch, mit Ausnahme von Stamm Nr. IX, welcher nach der 2. Nährbodenpassage spontan agglutinabel wird und 5 Generationen hindurch bleibt. Ein ähnliches Verhalten fand Verzár (29) an einem Typhusbazillus aus dem Stuhle eines Bazillenträgers. Nun interessiert uns aber mehr, wie sich das Agglutinationsvermögen des Ausgangsstammes im Verlauf der Tierpassagen dem isologen wie dem homologen Serum

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegenüber verminderte. Das Erhaltenbleiben der „reinen Linie“ wurde während der Experimente gleichzeitig kontrolliert (Plattenzüchtung), Untersuchung gefärbter und ungefärbter Präparate, zahlreiche biologische Versuche). Dabei wurden wesentliche Form- und Größendifferenzen der Individuen der verschiedenen Stämme nicht beobachtet, nur bei den Stämmen Nr. XI und XV zeigten sich biologische Gradunterschiede. Auch bei rigoroser Beurteilung der angeführten Ergebnisse ist zu sagen, daß die 8malige Wiederholung der beschriebenen Versuchsordnung genügte, um die Agglutinabilität eines normalen Paratyphus A-Stammes (Nr. I) einem stammgleichen Serum gegenüber auf $^1/_4$ zu reduzieren. Die besagten 8 Stämme bilden eine „reine Linie“. Eine Spontaninfektion mit Paratyphus B-Bazillus kam nicht zustande. Der Paratyphus B-Titer war neben dem Paratyphus A-Titer sehr niedrig. Das Agglutininbindungsvermögen des Paratyphus A-Stammes schwand nur nach und nach aus dem Rezeptorenapparate des untersuchten Stammes. Das Steigen des Paratyphus B-Titers während der Tierpassage war zu wenig auffallend, um im Sinne unserer Annahme verwertet werden zu können. Stamm Nr. IX hatten wir, nachdem er sich nach dem 1. Tierpassageversuch als inagglutinabel erwiesen hatte, in einem neueren Versuch aus dem Stamm Nr. VIII hergestellt. Sowohl dieser als auch die nächsten 6 Passagestämme blieben inagglutinabel, behielten aber ihre morphologischen und kulturellen Eigenschaften. Die Inagglutinabilität trat also urplötzlich auf und blieb Generationen hindurch bestehen.

Es trat auch bei einem 2. Stamme (Nr. IX) die Inagglutinabilität nach gleicher Versuchsanordnung plötzlich, schon nach der 1. Tierpassage, auf. Das Merkwürdigste aber war, daß die Inagglutinabilität nur dem isologen Serum gegenüber bestand, während mit einem homologen Serum auch der X. Passagestamm, wenn auch in bedeutend abgeschwächtem Maße, agglutinabel war.

Bei einer 3. Versuchsreihe mit dem Stamm Nr. VII sank die Agglutinabilität derselben sowohl dem isologen wie dem homologen Serum gegenüber parallel stufenweise ab. Das Aufrechterhalten der „reinen Linie“ wurde sowohl bei dieser wie bei der 2. Versuchsreihe durch kulturelle Untersuchungen gesichert.

Ist es nun möglich, daß von allen Eigenschaften gerade die als artspezifische gekannte Agglutination die größten Veränderungen erfährt?

Schon van Loghem (13) hat darauf aufmerksam gemacht, daß die Veränderlichkeit der biochemischen Reaktionen nur teilweise mit der Variabilität des Rezeptorenapparates parallel einhergeht. Daß sich nun dieser durch das Fortleben von Bakterien im tierischen Organismus in erster Linie verändert, erscheint schon deshalb glaubwürdig, weil der Ausbau des Rezeptorenapparates von jedem Bakterium in jedem tierischen Körper nach eigentümlichem Biochemismus bewerkstelligt wird. Friedberger (42, 43) und Moreschi (43) machten uns zuerst darauf aufmerksam, daß bei Immunisierungsversuchen mit einer und derselben Bakterienart an verschiedenen Tieren im Rezeptorenapparat des verwendeten Stammes beträchtliche Veränderungen auftreten können (siehe ferner die Arbeiten von Danysz (11), Mayer (33) und Schmitt (27). Nach den Untersuchungen Schmitts ist es auch verständlich, daß nach verhältnismäßig wenigen Experimenten und nach einer nur kurz dauernden Wechselwirkung zwischen Bakterium und Organismus dennoch so wesentliche Veränderungen zu verzeichnen sind und gerade in betreff der Ag-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glutination, welche als eine der wichtigsten Reaktionen angesehen werden muß, was die Identifizierung eines Bakteriums anlangt.

Man muß sich daher fragen, ob denn die Agglutination wirklich eine arteigene Eigenschaft ist und in welchem Sinne?

Manteufel, Zschucke und Beger (30) berichten über Agglutinations- und kulturelle Untersuchungen, welche sie an B. paratyphi B, B. enteritidis Gärtner, Hogcholerabazillen vorgenommen haben, und gelangen zu dem Schlusse, daß man mittels serologischer Reaktion nicht bestimmen kann, ob ein Hogcholerabazillus von menschlicher oder tierischer Herkunft ist. Schmitt (27) geht in seiner schon erwähnten Arbeit noch weiter und erkennt, im Gegensatz zu Sobernheim und Seligmann, die Agglutination für Paratyphus B-Bazillus und B. enteritidis Gärtner nicht als spezifische Arteigenschaft an, nur dann, wenn auch andere serologische Untersuchungen und das morphologische und biochemische Verhalten charakteristisch sind.

Auf Grund der oben mitgeteilten Versuchsergebnisse darf man als erwiesen annehmen, daß der Rezeptorenapparat des B. paratyphi A bei Mäuseversuchen in retrogradem Sinne variierbar ist. Daß gleichzeitig für die Paratyphus B-Agglutinine eine progressive Variation entstehen kann, wäre möglich, doch hat sich dies in den Versuchen nicht nachweisen lassen, oder kam infolge des Auftretens der Inagglutinabilität nicht zum Ausdruck. Weiter gelangt man zum Schlusse, daß das Ausscheiden eines Bakteriums aus dem Rahmen einer Bakterienart nur auf Grund veränderter serologischer Reaktion, wenn die morphologischen und biologischen Eigenschaften sonst gleich geblieben sind, nicht begründet ist. Der Rezeptorenapparat der Bakterien ist das Produkt der Wechselwirkung des lebenden Organismus und der Bakterien. Er kann nach wiederholtem Wechsel des Wirtes sich in entsprechender Zeit in progressivem oder regressivem Sinne verändern. So z. B. wird der B. paratyphi B im Organismus des Rindes in den B. enteritidis Gärtner umgewandelt (Schmitt), der Mäusetyphusbazillus in der Ratte geht in ein für Ratten pathogenes Bakterium über (Danysz). Während Bitter (41) die steigernde Wirkung der Tierpassage auf die Agglutination beschreibt, zeigen meine Versuche eine regressive Veränderung. Bitter sagt auch, daß im allgemeinen Stämme mit hohem Agglutinationstiter größere Pathogenität besitzen. Nach meinen Versuchen wäre anzunehmen, daß im allgemeinen die Stämme in einem empfänglichen Organismus durch den Variationsreiz im progressivem Sinne beeinflußt werden, ein unempfänglicher Organismus dagegen verändert die Ureigenschaften des Bakteriums im regressiven Sinne. Die Inagglutinabilität und Spontanagglutinabilität können während der Tierpassagen als Mutationserscheinungen plötzlich auftreten.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß der Bazillus Paratyphus A, trotz seines selbständigen serologischen Verhaltens und seiner ausschließlichen Pathogenität für Menschen, nicht der Vertreter einer eigenen Art ist, sondern nach allen Zeichen nur eine durch den Variationsreiz des menschlichen Organismus zustande gekommene Paratyphusvariante darstellt. Die Agglutination ist nun in dem Sinne arteigen, daß in dem Rezeptorenapparat jene agglutininbindenden Faktoren vorherrschen, welche unter der Wirkung des Chemismus des am häufigsten ergriffenen Wirtes entstanden sind. Ein Bakterium kann abwechselnd verschiedene tierische

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Organismen angreifen; die Folge davon ist, daß in seinem Rezeptorenapparat sich verschiedene „Engramme“ bilden. Dieser Vorgang würde dann das Zustandekommen der Gruppenagglutination erkiären.

Literaturverzeichnis.

1) Orvosi Hetilap. Bd. 65. 1921. — 2) Galambos, A Nábrori járványkòrtani tapantalasoi. 1917. — 3) Stintzing, Ztschr. f. ärztl. Fortbild. 1919. S. 153. — 4) Silbiger, Wien. med. Wochenschr. 1919. S. 1570. — 5) Sluka u. Strisower, Münch. med. Wochenschr. 1917. S. 278. — 6) Lehmann, ebenda 1916. S. 97. — 7) Schweinberg, Das österr. Sanitätswes. Jg. 24. 1912. S. 619, 643. — 8) Uckermark, Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 27. 1918. S. 147. — 9) Wagner u. Emmerich, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 1. — 10) Schmitz u. Kirschner, Münch. med. Wochenschr. 1915. S. 1769. — 11) Danysz, Compt. rend. Acad. d. Scienc. I. T. 165. 1917. p. 378. — 12) Fürst, Arch. f. Hyg. Bd. 87. 1918. S. 270. — 13) van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 401. — 14) Bahr, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1919. S. 214. — 15) Courmont et Chattot, Compt. rend. Soc. Biol. I. T. 79. 1916. p. 67. — 16) Gildemeister, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 129. — 17) Toenniessen, ebenda Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. S. 241. — 18) Schmitz, Ztschr. f. Fleisch u. Milchhyg. Jg. 24. 1914. S. 145, 180, 203. — 19) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. S. 1. — 20) Ders., Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 40. 1912. S. 433. — 21) Müller Reiner, München. med. Wochenschr. 1909, u. 5. Tagung d. Mikrobiolog. in Dresden 1911. — 22) Momose, Ztschr. f. Militärärzte. Tokio 1912. Nr. 35. — 23) Bradley, II. Report of the G. B. of Microbiol. 1912. Legislativ Assembly, New South Wales. — 24) Haendel, Congress d. Roy. Inst. of Publ. Health. Berlin 1912. — 25) Beyerinck, Fol. Mikrobiol. Bd. 1. 1912. S. 4—100. — 26) Nishino, Ztschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911. S. 92. — 27) Schmitt, Ztschr. f. Immunitätsforsch., Krankh. u. Hyg. d. Haust. Bd. 9. 1911. S. 188. — 28) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. S. 6. — 29) Verzar, ebenda Bd. 80. S. 161. — 30) Manteufel, Zschucke u. Beger, ebenda Bd. 86. S. 214. — 31) Bernhardt u. Ornstein, Berl. klin. Wochenschr. 1913. S. 16. — 32) Klein, Ztschr. f. Hyg. Bd. 73. 1912. S. 87. — 33) Mayer, Georg, Journ. of State Med. Vol. 21. 1913. p. 98. — 34) Rubinstein, Compt. rend. Soc. Biol. I. T. 80. 1917. p. 32. — 35) Werbitzki, Fol. Serolog. Vol. 7. 7 (zit. nach Kolle-Wassermann). — 36) Tsakalator, Schweiz. med. Wochenschr. 1921. S. 250. — 37) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. S. 6. — 38) Roček, Arch. f. Hyg. Bd. 86. H. 4—5. — 39) Lehmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 49. — 40) Ders., ebenda. Bd. 77. S. 4. — 41) Bitter, ebenda. Bd. 88. S. 435. — 42) Friedberger, Festschr. f. Salkowski. 1904. — 43) Friedberger u. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1905.

Nachdruck verboten.

Statistische Betrachtungen zur Grippepandemie in Breslau 1918—22.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Herbert Lubinski**, Abteilungsleiter am Institut.

Mit 4 Kurven im Text.

Die statistische Bearbeitung der letzten Grippepandemie ist bisher nur für das Gesamtgebiet des Deutschen Reiches und seiner Einzelstaaten in großen Zügen und auch das nur für einen Teil der pandemischen Zeit veröffentlicht. Es ist klar, daß bei den zur Verfügung stehenden Unterlagen die Resultate nicht die wünschenswerte Genauigkeit haben können. Eingehendere Untersuchungen erstrecken sich, so-

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weit sie überhaupt vorliegen, nur auf die 1. Epidemiewelle oder sogar nur einen Teil derselben.

Im Rahmen einer größeren Arbeit über Epidemiologie und Bakteriologie der Influenza habe ich die letzte Pandemie in Breslau vom statistischen Standpunkt aus zu erfassen versucht, und halte die gefundenen Resultate für interessant genug, um sie einer größeren Oeffentlichkeit zu unterbreiten, besonders da ich der Ueberzeugung bin, daß nur die genaue Bearbeitung kleiner Bezirke, bei denen man das Urmaterial einer eingehenden Prüfung unterziehen kann, uns ein klares, statistisches Bild geben kann, das vom epidemiologischen und sozial-hygienischen Standpunkte aus von größtem Interesse sein muß.

Aus äußeren Gründen kann die Veröffentlichung vorliegender Arbeit, die bereits im März v. J. abgeschlossen war, erst jetzt erfolgen.

Aufgabe der Statistik ist es, Empfindungsmäßiges, Subjektives durch objektive Zahlen zu ersetzen, und so wird es dem Wesen der Statistik nicht gerecht, wenn man Zahlenwerte, die einer sicheren Grundlage entbehren, für diese Zwecke verwenden will. Aus diesem Grunde kann man von der statistischen Forschung keine absoluten, richtigen Angaben über die Morbidität der Influenza erwarten. Diesbezügliche, die Gesamtbevölkerung betreffende Zahlen sind überhaupt nicht zu beschaffen, da eine Meldepflicht der Erkrankung nicht bestand und eine jetzt veranstaltete Umfrage bei den Aerzten nicht nur keine Aussicht auf Beantwortung hat, sondern auch nur ein unvollständiges Bild ergeben würde, weil eine sehr große Anzahl leichterer Fälle überhaupt nicht in ärztliche Behandlung getreten ist. Ein Beweis für die Fehlerhaftigkeit derartiger Ermittelungen bietet die Arbeit von Federschmidt, der für Nürnberg, wo eine Anzeigepflicht eingeführt war, auf Grund der eingegangenen Meldungen eine Gesamtmorbidität von 6,7 Proz. der Bevölkerung im Jahre 1918 errechnet hat, eine Zahl, die sicher nicht der Wirklichkeit entspricht. Eine zuverlässige Morbiditätsstatistik stammt nur von Erlendsohn, der auf Island, also einem sehr kleinen, abgeschlossenen Gebiete, feststellen konnte, daß von der 14 000 Personen betragenden Bevölkerung 11—12 000, d. h. 80—86 Proz., im Laufe von 4 Monaten an Influenza erkrankt sind. Diese Zahl dürfte wohl dem Eindruck entsprechen, den alle von der Verbreitung der Erkrankung haben.

Unzulässig erscheint es auch, bezüglich der Verbreitung der Seuche Befunde zu verallgemeinern, die bei Truppenverbänden, Krankenkassen und in Krankenhäusern erhoben worden sind. Die beim Militär gemachten Erfahrungen haben zwar den Vorzug, eine bestimmte Menschenmenge zu umfassen, die, unter ständiger ärztlicher Aufsicht stehend, alle Erkrankungsfälle zur Kenntnis des Beobachters brachte; es handelte sich aber um Leute, die fast sämtlich in einem für die Erkrankung besonders prädisponierten Alter standen und außerdem, wie die Beobachtung von Pelz und Kayser-Petersen gezeigt haben, durch die sehr enge und unhygienische Unterbringung unter Verhältnissen lebten, die der Verbreitung der Krankheit besonders kräftigen Vorschub leisteten.

Angaben von Krankenkassen können einen Anspruch auf Vollständigkeit nicht erheben, weil einerseits ein großer Teil der Erkrankungen überhaupt nicht zu ihrer Kenntnis gelangt ist, andererseits, nachdem die Vokabel „Grippe“ in den Sprachschatz der Mediziner wieder Aufnahme gefunden hatte, vieles unter diesem Namen figurierte, was sicher nicht dorthin gehört. Hinzu kommt, daß die Alterszusammensetzung der Kassenmitglieder nicht der der Bevölkerung entspricht und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Angaben über den Altersaufbau nicht vorhanden sind, so daß auch dadurch bei Verallgemeinerungen schwerwiegende Fehlschlüsse erfolgen müssen.

Die Unmöglichkeit, die Erkrankungsziffer richtig zu ermitteln, beweisen alle Zahlen, die auf diesen Grundlagen veröffentlicht worden sind. Die von Lemke für den Regierungsbezirk Oppeln mit 383 800 angegebene Erkrankungsziffer, die 17 Proz. der Bevölkerung entspricht, dürfte ebensowenig der Wirklichkeit auch nur nahe kommen, wie die von König, der im Regierungsbezirk Arnsberg eine Morbidität von 17,66 Proz. errechnet hat. Wenn Prein die Morbidität unter den Krankenkassenmitgliedern von Schwerin mit 18,7 Proz. und Löwenhardt die der Allgemeinen Ortskrankenkasse zu Breslau mit gar nur 7 Proz. angibt, so steht das mit allen subjektiven Eindrücken in so krassem Widerspruch, daß nur die oben genannten Fehlerquellen eine Erklärung dafür geben können.

Wenn trotzdem jemand aus solchen, eine derartig geringe Beteiligung der Bevölkerung ergebenden Zahlen den Schluß ableitet, daß die Influenza also nicht eine so große Verbreitung gehabt habe, so ist das nur als ein ganz grober Irrtum anzusehen.

Ich persönlich neige der Ansicht zu, daß, wenn man auch die allerleichtesten Formen der Grippe in Betracht zieht, die Morbidität mit nahezu 100 Proz. anzusetzen sein dürfte. Mit diesem hohen Prozentsatz steht ja die Grippe nicht vereinzelt da; ich erinnere nur an die Ausbreitung der Pocken, die so groß war, daß man die Erkrankung für einen physiologischen Vorgang gehalten hat.

Erscheint es also aussichtslos, der Wahrheit entsprechend Morbiditätszahlen zu gewinnen, so liegen die Verhältnisse bedeutend günstiger bei den Untersuchungen über die Mortalität. Hier stehen uns die Angaben der Aerzte auf den amtlichen Sterbefallmeldungen zur Verfügung, und wenn auch Fehlerquellen, von denen noch zu sprechen sein wird, in Rechnung gesetzt werden müssen, so sind diese doch nicht annähernd so groß, daß die gefundenen Werte als in der Luft schwebend anzusehen sind. So hat denn auch eine größere Anzahl von Bearbeitern die Mortalität der Grippe untersucht. Abzulehnen sind von vornherein diejenigen Befunde, die sich auf Krankenhäuser beschränken, da dort natürlich hauptsächlich diejenigen Fälle eingeliefert worden sind, die als fast sichere Todeskandidaten zu gelten hatten und den Prozentsatz der Sterbefälle stark in die Höhe trieben (Reiche, Gröner, Jaksch-Wartenhorst). Brauchbare Zahlen dürften nur in den schon erwähnten Arbeiten von König und Lemke enthalten sein.

Für meine Untersuchungen wurde mir in liebenswürdigster Weise das notwendige Material vom Statistischen Amt der Stadt Breslau zur Verfügung gestellt. Für die mir zuteil gewordene Unterstützung bin ich sowohl Herrn Direktor Ergang wie auch Herrn Stadtsekretär Gletzer zu größtem Danke verpflichtet.

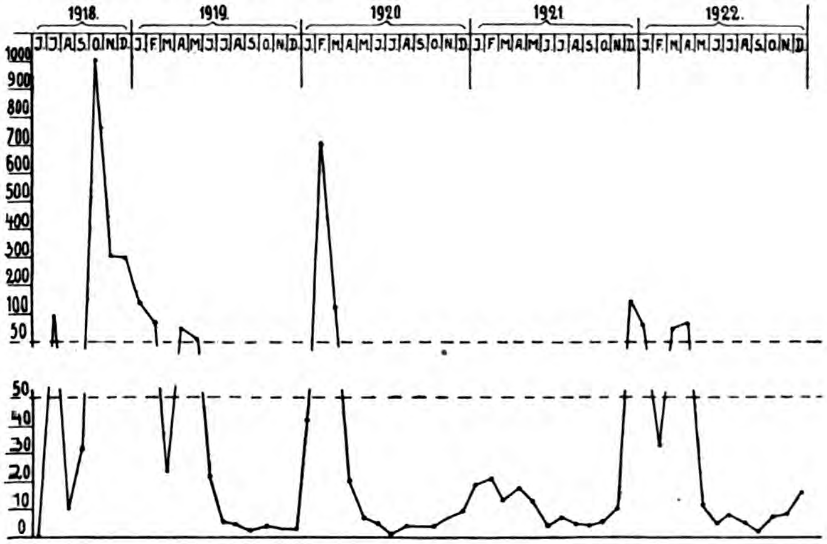
Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß man auch den absoluten Werten der Mortalitätsstatistik der Grippe mit einer gewissen Vorsicht gegenübertreten muß. Fehlerquellen sind auch hier nicht zu vermeiden. Würde man sich bei der Berechnung nur auf die Fälle beschränken, die den Vermerk „Grippe“ oder „Influenza“ tragen, so würde man sicher eine sehr große Zahl von Grippetodesfällen außer Betracht lassen. Teils durch falsche Diagnose, teils durch ungenaue Ausstellung der Totenscheine ist vielfach als Todesursache nur die den tödlichen Ab-

Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

schluß herbeiführende Lungenentzündung angegeben worden, eine Beobachtung, die besonders häufig in den ersten Monaten der Pandemie zu machen ist. Auf der anderen Seite aber ist mit der Diagnose auch Mißbrauch getrieben worden, indem die verschiedenartigsten Krankheiten, bei denen im Endstadium irgendwelche katarrhalischen Erscheinungen hinzugetreten sind, als durch Grippe kompliziert angesehen wurden. Als besonders eklatantes Beispiel möchte ich hier die Aufzeichnungen anführen, die ich auf dem Totenschein eines 70jähr. Mannes gegen Ende der 2. Epidemiewelle gefunden habe:

Grundkrankheit: hochgradige Arteriosklerose.
Begleitkrankheit: Rheumatismus und Grippe.
Unmittelbare Todesursache: Herzschwäche.

Ob es sich hier wirklich um einen Fall echter Grippe gehandelt hat, ist natürlich bei der statistischen Verarbeitung nicht mehr festzustellen. Die weitaus meisten Meldungen aber lassen klar und deutlich die Influenza bzw. die sekundäre Pneumonie als Todesursache erkennen. Und so ist



Kurve 1. Grippemortalität in Breslau vom Juni 1918 bis Dezember 1922.

anzunehmen, daß Fälle, wie der eben geschilderte, nur selten sind, so daß sie bei größerem Material nicht sehr ins Gewicht fallen.

Wie bereits erwähnt, verbirgt sich eine große Zahl von Grippetodesfällen unter der Rubrik Lungenentzündung. Es geht dies deutlich daraus hervor, daß gleichzeitig mit dem Einsetzen der Grippe ein sprunghaftes Ansteigen der Pneumonie zu beobachten ist. Während von 1910—1917 im Jahresdurchschnitt 800 Personen in Breslau an Pneumonie zugrunde gingen, steigt diese Zahl 1918 auf 1351 an, um, wie man bei der Betrachtung der einzelnen Monate noch genauer beobachten kann, mit dem Abklingen der Grippe auf die normale Zahl wieder zurückzugehen. Aus den Durchschnittszahlen der in den genannten Jahren an Pneumonie Verstorbenen konnte ohne Schwierigkeit der Ueberschuß ermittelt werdeu, der der Grippe zuzurechnen ist. Die dadurch erhaltenen Zahlenwerte sind als die der Wirklichkeit entsprechenden von mir berücksichtigt.

Fast gleichzeitig mit der Ausbreitung im übrigen Deutschland gegen Ende des Monats Juni 1918 hielt die Influenza auch in Breslau

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihren Einzug. Ueber den Seuchenablauf gibt uns die Kurve 1 Aufschluß, die die gesamten Grippetodesfälle in zeitlicher Anordnung umfaßt.

Deutlich zeichnen sich 3 durch längere seuchenfreie Zwischenräume voneinander getrennte Epidemiewellen ab. Der eigentliche Beginn der Seuche ist in den Juni zu verlegen. Erst im folgenden Monat aber kommt es zu einer auffälligen Häufung von Todesfällen an Grippe, die jedoch im August und September wieder auf ein Minimum zurückgehen. Der Oktober bringt dann erst den Ausbruch der eigentlichen Katastrophe mit der riesenhaften Steigerung der Sterbeziffer auf 1003, eine Zahl, die in keinem der folgenden Monate mehr erreicht wird und über ein Viertel aller in Breslau beobachteten Grippetodesfälle darstellt. In jähem Absturz auf etwa ein Drittel der Höchstziffer hält sich dann die Zahl der Todesopfer die 3 folgenden Monate hindurch auf ansehnlicher Höhe, um von Februar 1919 ab allmählich zu verklingen. Im Juni ist die Seuche als erloschen anzusehen. Wie nach den Erfahrungen der früheren Epidemien zu erwarten stand, setzte wenige Monate später ein neuer Seuchenschub ein, der, Januar 1920 beginnend, bereits im folgenden Monat seinen Höhepunkt mit 703 Todesfällen erreichte und in rascherem Abklingen als das 1. Mal bereits im April sein Ende fand. Von geringeren Schwankungen abgesehen, verlaufen die nächsten Monate ruhig: die kleine Steigerung in den Wintermonaten 1921 dürfte weniger als Grippe aufzufassen sein, sondern eher als eine durch die starke Kälte und den Kohlenmangel bedingte Erhöhung der Pneumonien, zumal es sich vorwiegend um Personen im Alter von über 50 Jahren handelt. Erst gegen Ende des Jahres 1921 macht sich wieder eine stärkere Zunahme der Influenzatodesfälle bemerkbar, die jedoch nicht das Ausmaß der vorhergehenden Wellen erreicht und im April plötzlich abbricht, sich auch durch diesen plötzlichen Abbruch von ihren Vorgängern unterscheidend. Der zeitliche Ablauf der Pandemie ist also in Breslau ganz ähnlich dem in anderen Teilen des Deutschen Reiches beobachteten.

Im ganzen sind in der Zeit von Juli 1918 bis Dezember 1922 in Breslau 3723 Personen an Grippe gestorben. Die durchschnittliche Bevölkerungszahl betrug nach der Fortschreibung in diesen Jahren 528657 Personen. Auf 10000 Lebende sind demnach 70,42 Todesfälle an Grippe zu beklagen; die Mortalität für die ganze Pandemie beträgt also ungefähr $^3/_4$ Proz. der Bevölkerung.

Die Sterbeziffern der einzelnen Seuchenschübe sind folgende:

1. Seuchenschub (Juli 1918 bis Juni 1919): 2142 = 42,6 auf 10000 Lebende,
2. Seuchenschub (Jan. 1920 bis April 1920): 900 = 16,7 „ 10000 „
3. Seuchenschub (Dez. 1921 bis April 1922): 423 = 7,7 „ 10000 „

Die weitaus größte Zahl der Todesfälle ist demnach gleich bei dem ersten Einbruch der Seuche zu verzeichnen. Die Mortalität hat dann im Verlaufe der Pandemie abgenommen, wahrscheinlich infolge einer Erhöhung der Immunität der Bevölkerung und einer Virulenzminderung der Erreger. Ob auch in der Letalität ein Rückgang zu verzeichnen ist, läßt sich bei dem Mangel an verläßlichen Morbiditätszahlen nicht ziffernmäßig feststellen. Soweit man den subjektiven Eindrücken trauen darf, möchte ich die Frage bejahen.

Um die von mir ermittelten Zahlen mit den anderweit gefundenen vergleichen zu können, ist es erforderlich, sie nicht nach einzelnen Seuchenschüben, sondern rein zeitlich nach Kalenderjahren zu ordnen. Es wurden von den einzelnen Beobachtern für 1918 die in der Tab. I angegebenen Werte ermittelt.

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle I.

Beobachtungsgebiet	Zahl der Todesfälle auf je 10 000 Lebende
1. Breslau (Stadt)	35,2
2. Oppeln (Regierungsbezirk)	75,0
3. Arnsberg (Regierungsbezirk)	35,6
4. Preußen	38,9
5. Deutsches Reich	37,0

Die Zahlen für Preußen und das Deutsche Reich sind nach Angaben in den Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamtes von mir berechnet worden. Auch hier ist der Ueberschuß der Pneumonien gegenüber dem Durchschnitt der letzten 10 Jahre der Grippe zuaddiert worden. Es ergibt sich also für die genannten Beobachtungsgebiete eine ziemliche Uebereinstimmung in der Mortalität. Nur der Regierungsbezirk Oppeln fällt aus dem Rahmen mit einer doppelt so hohen Mortalitätsziffer heraus. Die hohe Zahl, die von Lemke festgestellt worden ist, dürfte aber aller Wahrscheinlichkeit nach nicht auf einer stärkeren Wirkungskraft der Seuche beruhen, was an sich bei den ungünstigen hygienischen Verhältnissen Oberschlesiens nicht wunder nehmen würde. Haben doch auch andere Seuchen dort eine im Verhältnis zum übrigen Deutschen Reiche besonders günstige Verbreitung gefunden (Genickstarre 1905, Ruhr und Pocken während des Krieges). Die Erklärung dürfte vielmehr darin zu suchen sein, daß L. sämtliche Pneumonien dem Konto der Grippe zugeschrieben, es aber unterlassen hat, den auch unter normalen Verhältnissen sehr beträchtlichen Prozentsatz der durch Pneumonien bedingten Todesfälle in Abzug zu bringen.

Erscheinen diese Zahlen schon schrecklich genug, so verblassen sie gegenüber den Ziffern, die aus tropischen Gegenden mitgeteilt worden sind. So sollen auf Madagaskar bei der 1. Einschleppung im Jahre 1919 3,4 Proz. der Bevölkerung, auf dem Archipel von Tahiti und den Isle sous les Ventes sogar 16,4 Proz. der Seuche zum Opfer gefallen sein. Die Gesamtverluste der Menschheit werden auf ca. 20 Mill. geschätzt, von denen $^3/_4$ auf Ostasien entfallen.

Im Vergleich zu diesen Riesenzahlen kommen einem die durch die Pandemie von 1890 ff. bewirkten Verluste direkt unscheinbar vor. Die Sterblichkeitsziffer an Influenza betrug in Breslau für die fast 4 Jahre wütende Seuche insgesamt 8,2 auf 10 000 Lebende; und selbst wenn wir, von der Annahme ausgehend, daß ein Teil der Influenzafälle sich unter anderen Diagnosen verbirgt, deren zahlenmäßige Ermittelung infolge mangelnder statistischer Unterlagen nicht möglich ist, selbst wenn wir diese Zahlen verdoppeln, so kommt gegenüber der 75,0 auf 10 000 Lebende betragenden Sterblichkeitsziffer der letzten Pandemie immer noch eine Verfünffachung heraus. Und doch bezeichnete Leichtenstern die Epidemie seiner Zeit als die bedeutendste, die je gewesen, was wohl mit größerem Recht jetzt von der letzten behauptet werden kann.

Meine weiteren Untersuchungen beschäftigten sich mit der Frage, welche Faktoren auf die Sterblichkeit einen besonderen Einfluß ausgeübt haben. Vornehmlich handelte es sich um die Einwirkung von Alter und Geschlecht. Es ist natürlich nicht gleichgültig, ob arbeitskräftige und fortpflanzungsfähige Menschen dahingerafft werden oder für die Volkswirtschaft und Volkswohlfahrt nur weniger bedeutungsvolle Greise. Die einzige Möglichkeit, hierüber ein richtiges Bild zu bekommen, ist

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

die Berechnung der Todesfälle auf die vorhandenen Lebenden des gleichen Alters. Eine Kurve, die die Verteilung des Alters auf die Gesamtheit der Todesfälle darstellt, muß zu falschen Schlüssen führen, da die höheren Altersstufen infolge natürlichen Abganges einen geringeren Bestand aufweisen und dementsprechend natürlich auch nur einen geringeren Prozentsatz an Todesopfern stellen können.

Der Berechnung stellten sich besondere Schwierigkeiten dadurch entgegen, daß infolge der Kriegsverhältnisse der Altersaufbau der Bevölkerung in seiner normalen Entwicklung gestört war. Auf der einen Seite fehlen die Männer, die im Felde standen, auf der anderen ist der während des Krieges eingetretene starke Geburtenrückgang zu berücksichtigen, dem 3/4 Jahr nach Kriegsende ein plötzliches Emporschnellen der Geburtsziffern gegenübersteht. Für die Berechnung der einzelnen Altersklassen über 5 Jahren wurden die Durchschnittszahlen der Bevölkerung nach der Fortschreibung in den zur Beobachtung stehenden Monaten verwendet. Als Verteilungsschlüssel dienten die Ergebnisse der letzten Volkszählung von 1919.

Diese Methode aber ist für die ersten Jahresklassen von 0—5 nicht brauchbar, da, wie bereits erwähnt, in der in Frage kommenden Zeit die Schwankungen der Geburtenziffer sehr beträchtlich waren. Der nach Kriegsbeginn einsetzende stetige Geburtenrückgang mit seiner Verminderung der Geburten bis auf die Hälfte der Vorkriegszeit wurde um die Mitte des Jahres 1919 plötzlich unterbrochen und schlagartig hob sich die Zahl der Geburten wieder auf Vorkriegshöhe. Dadurch wurde natürlich der Altersaufbau der Jahrgänge 0—5 vollkommen aus seiner normalen Entwicklung geworfen.

Um verläßliche Angaben über die Zahl der vorhandenen Lebenden dieser Jahrgänge zu erhalten, wurde von der Geburtenziffer des entsprechenden Jahres die Zahl der in den folgenden Jahren im entsprechenden Alter Gestorbenen in Abzug gebracht. Wenn z. B. im Jahre 1917 7420 Geburten zu verzeichnen sind, so waren, da in diesem Zeitraume 1264 Kinder im Alter von 0—1 Jahr starben, im Jahre 1918 noch 6156 im Alter von 1—2 Jahren vorhanden. Auf diese Art und Weise wurden die notwendigen Zahlen sowohl für die Jahre der Pandemie wie auch für den Zeitraum von 1910—1913 ermittelt, die für die Berechnung der den Influenzatodesfällen zuzufügenden Pneumonieüberschüsse benötigt wurden. Ich bin mir wohl bewußt, daß die auf diese Weise gefundenen Werte nicht absolut genau sind, da z. B. die durch Wanderungen hervorgerufenen Aenderungen nicht berücksichtigt sind: eine größere Genauigkeit aber ist, wie ich glaube, für den vorliegenden Zweck nicht nötig.

Der auf diese Weise ermittelte Bevölkerungsaufbau findet sich in den folgenden Tabellen, die mir von allgemein bevölkerungsstatistischem Interesse zu sein scheinen. Führen uns doch diese Zahlen eindringlich vor Augen, wie hoch die Verluste sind, die wir durch den Geburtenrückgang während des Krieges erlitten haben.

Tabelle II.

Zahl der während der Zeit von 1910—1913 im Alter von 0—5 Jahren Stehenden.

Im Jahre	1910	1911	1912	1913
standen im Alter von 0—1 Jahren	13 937	13 969	13 961	14 166
„ „ „ „ 1—2 „	11 398	11 320	11 078	11 682
„ „ „ „ 2—5 „	32 663	32 701	33 163	32 519

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Zahl der während der Zeit von 1918—1922 im Alter von 0—5 Jahren Stehenden.

	Im Jahre 1918	1919	1920	1921	1922
standen im Alter von 0—1 Jahren	7 491	11 222	13 943	12 968	11 404
„ „ „ „ 1—2 „	6 156	6 257	9 672	11 759	10 714
„ „ „ „ 2—5 „	18 304	21 880	18 152	20 908	25 911

Für die Ermittelung der den Influenzatodesfällen hinzuzurechnenden Pneumonien stellte ich zunächst den Durchschnitt der Pneumonietodesfälle fest in den Monaten Januar bis Juni und Juli bis Dezember der Jahre 1910—13 berechnet auf je 1000 Lebende des gleichen Alters. Die Teilung in 2 Jahreshälften erwies sich als notwendig, weil die Mortalität an Pneumonie innerhalb des Jahres großen Schwankungen unterworfen und in der 1. Hälfte des Jahres bedeutend höher ist als in der 2.; weil nun die größte Zahl der Influenzafehldiagnosen, die sich unter der Angabe Pneumonie verbergen, in den ersten Monaten der Pandemie erfolgt ist, treten diese fälschlicherweise als Pneumonien angegebenen Sterbefälle deutlicher hervor, als wenn der Durchschnitt des ganzen Jahres in Betracht gezogen worden wäre. Die Unterschiede zwischen den Vergleichsjahren und der Zeit der ersten Grippewelle gehen aus den nachstehenden Angaben hervor.

Tabelle IV.

Gemeldete Todesfälle an Pneumonie berechnet auf je 1000 Lebende der betreffenden Altersklasse.

Beobachtungsjahr	In den Monat. Juli—Dez. Alter 0—1	1—2	2—5 J.	Beobachtungsjahr	In den Monat. Jan.—Juni Alter 0—1	1—2	2—5 J.
1910—13	7,5	2,4	0,4	1910—13	11,3	5,0	0,8
1918	15,6	10,6	3,2	1919	16,7 [1])	13,5	1,0

Es betrug demnach der Ueberschuß der Pneumonien gegenüber dem Durchschnitt der Vergleichsjahre

	Im Alter von 0—1	1—2	2—5 Jahren	
In den Monaten Juli — Dezember 1918	8,1	8,2	2,7	auf je 1000 Lebende berechnet
„ „ „ Januar — Juni 1919	5,4	8,4	0,3	„ „ 1000 „ „

Die Steigerung der angeblich durch Pneumonien hervorgerufenen Todesfälle ist also in den beiden Hälften des 1. Seuchenzuges recht verschieden. Prozentual ausgedrückt macht sie in den ersten 6 Mon. für die einzelnen Altersklassen 100 bzw. 400 bzw. 800 Prozent aus, während die entsprechenden Zahlen für die 2. Hälfte 50, 150 und 0 betragen. Diese Steigerungen sind so beträchtlich und auffallend, daß sie nur mit dem Auftreten der Grippe zu erklären sind. Für die gesamte erste Seuchenperiode ergibt sich demnach ein der Grippe zuzurechnender Ueberschuß an Pneumonien von 6,8, im 1., 8,3 im 2. und 1,5 im 3.—5. Lebensjahre.

An Influenzatodesfällen sind in der Zeit von Juli 1918 bis Juni 1919 gemeldet, wieder berechnet auf je 1000 Lebende des gleichen Alters

	Im Alter von 0—1	1—2	2—5 Jahren
	8,4	5,7	0,8
dem sind hinzuzufügen als Pneumonieüberschuß	6,8	8,3	1,5
so daß also die Gesamtsterblichkeit an Grippe	15,2	14,0	2,3 beträgt.

1) Für diesen Zeitraum wurde die Zahl der im Alter von 0—1 Jahr Stehenden gleich der im Jahre 1918 gesetzt, da die Steigerung der Geburtenziffer erst in der zweiten Jahreshälfte einsetzte.

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Tatsache, daß mehr Meldungen mit der Diagnose Pneumonie vorliegen, die als Influenza anzusehen sind, als Influenzadiagnosen gestellt sind, möchte ich zum geringen Teil nur auf falsche Diagnose zurückführen. Zum größeren Teil trägt wohl die ungenaue Ausfüllung der Sterbekarten die Schuld.

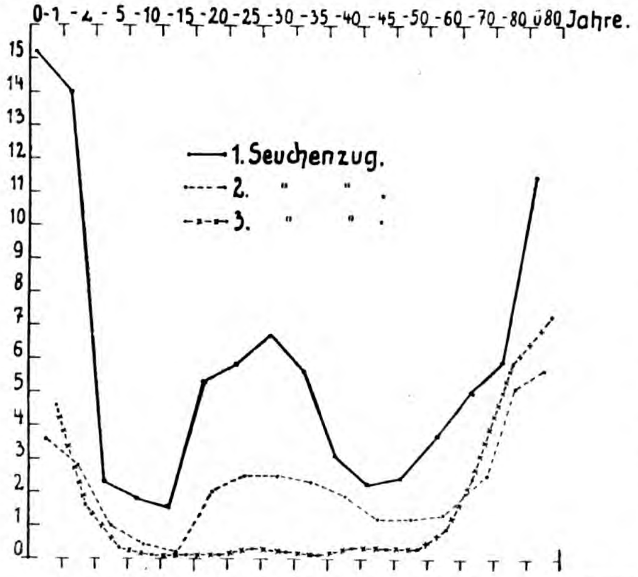
Die Berechnungen für den 2. und 3. Seuchenzug gestalteten sich bedeutend einfacher, da ein Ueberschuß an Pneumonien gegenüber den Vergleichsjahren nur noch in so geringem Maße festzustellen war, daß er innerhalb der normalen Schwankungsbreiten liegend nicht mehr in Rechnung gesetzt wurde.

Die Sterblichkeitsziffern für diese beiden Seuchenschübe stellt die folgende Tab. V dar.

Tabelle V.

Es starben in der Altersklasse	0—1	1—2	2—5	
während des 1. Seuchenzuges	3,6	2,8	1,0	auf je 1000 Lebende berechnet
„ „ 2. „	4,6	1,6	0,3	

Die Verteilung der Todesfälle auf die einzelnen Altersklassen der gesamten Bevölkerung geht aus der beifolgenden Kurve 2 hervor.



Kurve 2. Grippemortalität berechnet auf je 1000 Lebende des betreffenden Alters, getrennt nach einzelnen Seuchenzügen.

Wir sehen zunächst, daß die 1. Pandemiewelle gegenüber den folgenden in allen Altersstufen die meisten Opfer gefordert hat. Ganz besonders kraß tritt diese Tatsache bei den Säuglingen und 1 Jahr alten Kindern hervor, bei denen mehr Todesfälle als bei allen anderen Jahrgängen zu verzeichnen sind. Diese Tatsache steht in direktem Gegensatz zu der von Stolte gerade für die 1. Seuchenperiode geäußerten Anschauung: „Je jünger das Kind, um so weniger empfänglich scheine es für die Grippe zu sein, um so seltener erkrankt es und um so leichter sei der Verlauf.“ Aehnlich äußern sich auch Bossert und Leichtentritt, die die Mortalitätsziffer der Influenzapneumonie im Kindesalter als nicht hoch bezeichnen. Für die ersten beiden Lebensjahre trifft diese Ansicht wohl nicht zu. Eine Erklärung hierfür dürfte wohl darin zu suchen sein, daß diese Anschauungen mehr auf subjektiven Eindrücken als auf statistischen Unterlagen beruhen.

Andere Beobachter haben auf diese hohe Beteiligung der kleinsten Kinder bereits hingewiesen (Niemann und Foth, Hamburger und Balint, Meyer, Jamin und Stettner). Allerdings ist gegen das von diesen Autoren beigebrachte Material der Einwand zu erheben, daß es auf zu kleinen Zahlen beruht, und daß es teilweise aus Beobachtungen

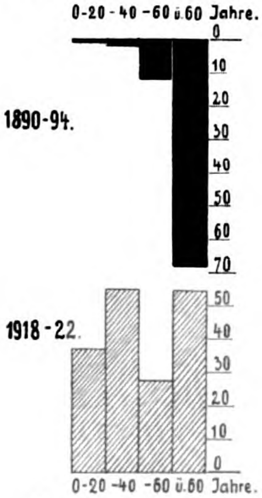
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in der Klinik gewonnen ist, wo natürlich nur schwere Fälle Aufnahme gefunden haben oder wo es sich bei Hausendemien um Kinder handelt, die an und für sich gesundheitlich bereits schwer geschädigt waren. Nur so ist es zu erklären, daß z. B. Jamin und Stettner eine Letalität von 28,6 Proz. fanden. Ihr Beobachtungsmaterial bestand aus 7 Fällen, von denen 2 tödlich verliefen. Eine derartige Vernachlässigung des Gesetzes der großen Zahlen muß natürlich zu falschen Ergebnissen führen. Daß sie trotzdem zu einer richtigen Auffassung über die Beteiligung der Säuglinge an der Grippemortalität gekommen sind, dürfte daher eher auf die Richtigkeit ihrer subjektiven Eindrücke zurückzuführen sein.

Im 3. Lebensjahre sinkt dann die Mortalitätskurve in steilem Abfall. Die nächste Gruppe, die schwere Verluste zu beklagen hat, ist die Altersstufe von 20—35 Jahren, eine Tatsache, die im Einklang steht mit allen subjektiven Eindrücken und das besondere Charakteristikum der letzten Pandemie ist. Wir finden dann ein Zurückgehen der Sterblichkeit in den Jahren von 35—50. Darüber hinaus macht sich wieder ein starkes Ansteigen der Kurve noch weit über das des mittleren Lebensalters hinausgehend bemerkbar, wenn auch die Höhe der ersten Lebensjahre nicht ganz erreicht wird. Diese relative starke Beteiligung des hohen und höchsten Alters an der Sterblichkeit der 1. Pandemiewelle ist, wie ich glaube, bislang noch nicht voll gewürdigt worden.

Der 2. Seuchenzug weist ein ähnliches Bild in verkleinertem Maßstabe auf. Hervorzuheben ist nur die im Verhältnis große Verminderug der Todesfälle im Alter von 1—2 Jahren.

Ganz anders sieht die Kurve des 3. Seuchenzuges aus. Wir haben hier fast gar keine Beteiligung der Altersklassen von 2—60 Jahren. Nur was darunter und darüber hinaus ist, hat diesem Wiederaufflammen der Grippe Tribut zollen müssen.



Kurve 3. Grippemortalität berechnet auf je 10 000 Lebende der betreffenden Altersklassen.

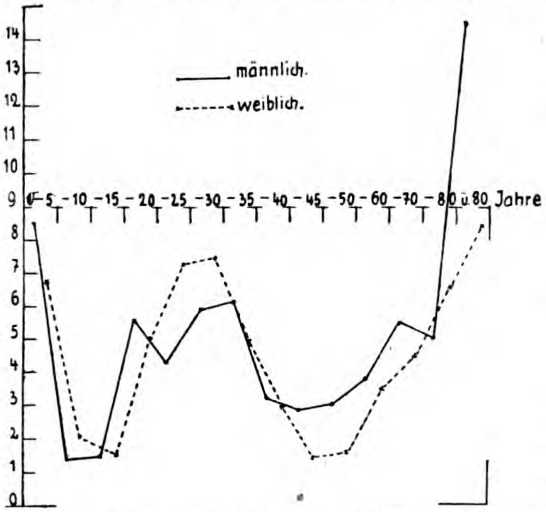
Die Unterschiede im Verhalten der einzelnen Jahresklassen bei den verschiedenen Seuchenschüben der letzten Pandemie erklären sich ungezwungen durch die Immunisierung, welche aus der allmählichen Durchseuchung des ganzen Volkes zustande gekommen ist. Die Jüngsten sind natürlich von dieser nur wenig betroffen worden; das Zurückgehen der Sterblichkeit dieser Altersklassen beim 2. und 3. Seuchenzuge gegenüber dem 1. ist wohl auf die Virulenzminderung der Erreger und auf eine Schutzwirkung der von der Mutter auf das Kind übertragenen Immunstoffe zurückzuführen. Die alten Leute aber verhalten sich ja bekanntlich der aktiven Immunisierung gegenüber refraktär.

Die hervorgehobene relativ starke Beteiligung des hohen und höchsten Alters während der gesamten Pandemie kann natürlich nicht darüber hinwegtäuschen, daß die Mehrzahl der Opfer von den für die Gesamtheit wertvollsten Jahrgängen gefordert worden ist.

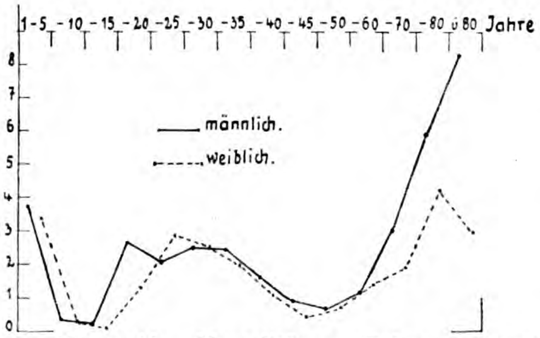
In dieser Beziehung unterscheidet sich die letzte Pandemie grundlegend von der in den 90er Jahren. Ein genaues Bild hiervon gewinnt man bei der Betrachtung der Kurve 3, die deutlich erkennen läßt, daß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

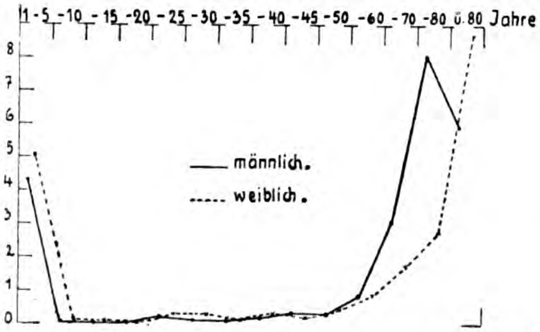
damals nur das hohe Alter von der Influenza gefährdet war und daß die Seuche für das jugendlich kräftige Alter keine große Gefahr bedeutete.



Kurve 4a. Mortalität an Grippe während des 1. Seuchenzuges Juli 1918 bis Juni 1919 nach Alter und Geschlecht, berechnet auf je 1000 Lebende des betreffenden Alters und Geschlechts.



Kurve 4b. Mortalität an Grippe während des 2. Seuchenzuges Jan.-April 1920 nach Alter und Geschlecht, berechnet auf je 1000 Lebende des betreffenden Alters und Geschlechts.



Kurve 4c. Mortalität an Grippe während des 3. Seuchenzuges Dez.-April 1922 nach Alter und Geschlecht, berechnet auf je 1000 Lebende des betreffenden Alters und Geschlechts.

Eine weitere Frage, die nur durch statistische Untersuchungen ihre Beantwortung finden kann, ist die nach der Beteiligung der Geschlechter. Selbstverständlich müssen entsprechend der größeren Zahl der vorhandenen weiblichen Individuen auch absolut vom weiblichen Geschlecht mehr Todesfälle zu verzeichnen sein. Die Prozentberechnung aber, wie sie in der Kurve 4a—c zum Ausdruck kommt, zeigt uns, daß eine Bevorzugung eines Geschlechtes nicht stattgefunden hat. Die Kurven verlaufen fast gleich. Nur beim 1. Seuchenzuge fällt der Rückgang in der Sterblichkeitsziffer bei den Männern im Alter von 20—30 Jahren gegenüber dem weiblichen Geschlechte auf. Es dürfte diese Erscheinung damit zu erklären sein, daß gerade die kräftigsten und gesündesten Vertreter dieses Alters, die, wie wir wissen, besonders gefährdet waren, zur Zeit von Breslau abwesend im Felde gestanden haben. Wir sehen beim 2. und 3. Seuchenzuge einen solchen Unterschied nicht mehr. Die Differenzen zwischen den Geschlechtern im hohen Alter über 70 beruhen auf Zufälligkeiten, da von diesen Jahresklassen natürlicherweise nur noch wenig Individuen vorhanden sind. Infolgedessen ist ein einziges Todesfall in der Lage, das Prozentverhältnis ganz beträchtlich zu verschieben.

Ich habe weiter versucht, zu ermitteln, ob Beruf, soziale Stellung, ungünstige Wohnungsverhältnisse einen besonderen Einfluß auf die Sterblichkeitsziffer ausgeübt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haben und bin zu einem völlig negativen Resultat gekommen. Alle Stände und Schichten des Volkes haben in gleicher Weise der todbringenden Influenza ihr Opfer zollen müssen.

Verzeichnis der benutzten Literatur.

1) Bossert u. Leichtentritt, Dtsche med. Wochenschr. 1919. S. 176. — 2) Erlendsohn, ref. nach Hyg. Rundsch. 1920. S. 426. — 3) Federschmidt, Münch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 13. — 4) Hamburger u. Balint, Med. Klin. 1920. S. 1319. — 5) Jacksch-Wartenhorst, ebenda. 1920. Nr. 21. — 6) Jamin u. Stettner, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 91. 1920. — 7) Kayser-Petersen, Münch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 25. — 8) König, Veröffentl. a. d. Geb. d. Med.-Verw. Bd. 10. 1920. — 9) Lemke, ebenda. — 10) Levinthal, Ergebn. d. allg. Pathol. usw. Jg. 19. — 11) Loewenhardt, Cbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. — 12) Möllers, Spez. Pathol. u. Ther. inn. Krankh. (Kraus-Brugsch). — 13) Meyer, Klin. Wochenschr. 1922. S. 737. — 14) Niemann u. Foth, Dtsche med. Wochenschr. 1919. S. 741. — 15) Pelz, ebenda. 1918. Nr. 40. — 16) Prein, Ztschr. f. Hyg. Bd. 90. 1920. — 17) Reiche, Med. Klin. 1920. S. 1225. — 18) Stolte, Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 6. — 19) Veröffentl. d. Reichsgesundheitsamts. 1922.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Gelbsucht bakteriellen Ursprungs.

[Aus dem Staatlichen Hygieneinstitut in Warschau (Direktor: Dr. L. Rajchman).]

Von Dr. med. et phil. **Ludwik Anigstein** und **Z. Milin'ska,**
Assistenten des Instituts.

Seit Herbst 1921 bis Ende 1922 haben wir 93 Gelbsuchtfälle, die in verschiedenen Orten Polens vorgekommen sind, in ätiologischer sowie klinischer Richtung untersucht. Unter dieser Gesamtzahl waren 67 Erkrankungen als sogenannter „Icterus catarrhalis“ diagnostiziert. Die größte Zahl wurde von uns im Herbst 1921 in der Stadt Równe (Polnisch-Wolhynien) beobachtet, wo die Epidemie ca. 250 Erkrankungen umfaßte, außerdem sporadisch auftretende Icterusfälle in den Krankenhäusern von Warschau und seiner Umgebung.

Es soll hier hervorgehoben werden, daß der klinische Verlauf der sporadischen sowie der epidemisch auftretenden Erkrankungen identisch war.

Die Krankheit beginnt meistens mit Magen- und Darmstörungen (Durchfall oder Verstopfung), Fieber, Uebelsein, manchmal Erbrechen. Diese Erscheinungen sind stets von Druckgefühl in der Magengegend begleitet, einem für dieses Krankheitsbild charakteristischen Symptom.

Schon im frühen Stadium der Erkrankung, meistens am 3. oder 4. Tage, kommt eine allgemeine Gelbsucht zum Vorschein, die bis zu 3 oder 4 Wochen lang anhält. Leber und Milz sind meistens vergrößert und schmerzhaft. Die Schwellung der Leber war bei manchen Patienten sogar nach mehreren Wochen noch feststellbar, nachdem andere Erscheinungen schon verschwunden waren. Diese Tatsache, welche von anderen Autoren (Brugsch, Schürer, Beyreis) auch beobachtet wurde, weist darauf hin, daß die Schwellung der Leber nicht nur auf einer Stauung der Galle beruht, sondern daß im Lebergewebe tiefere Veränderungen stattfinden, so daß die Ausheilung des Organs längere

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit benötigt. Unter den (im allgemeinen milden) Icteruserkrankungen in Wolhynien sind 3 Todesfälle vorgekommen, welche sämtlich schwangere Frauen betrafen, bei denen diese Krankheit gewöhnlich in schwerer Form verläuft (Cantacuzène 1918). Außerdem kamen noch 5 Todesfälle unter den 93 Erkrankungen vor.

Das Blutbild dieser klinisch vom sogenannten „Icterus catarrhalis" nicht zu unterscheidenden Krankheit ist durch eine relative Lymphozytose 50—75 Proz. sowie eine Eosinophilie 5—15 Proz. gekennzeichnet, Erscheinungen, die schon von Brugsch und Schürer (1919) bei diesem Krankheitsbilde beobachtet wurden.

Im allgemeinen deckt sich das klinische Bild vollkommen mit den Beschreibungen von Saraillhé und Clunet (1916) an den Dardanellen, von Cantacuzène (1918), sowie von Brugsch und Schürer (1919) in Rumänien.

Da einige schwere Fälle in Równe klinisch mit der Weilschen Krankheit Aehnlichkeit hatten, so wurde die mikrobiologische Untersuchung zunächst in dieser Richtung vorgenommen, jedoch mit negativem Resultat.

Weitere Untersuchungen beruhten auf Agglutinationsproben der Sera der Kranken mit einer Reihe von Typhus- und Paratyphusstämmen. Ein jedes Serum wurde mit je 17 Stämmen geprüft. In der vielgestaltigen Gruppe der Paratyphusbazillen wurden vor allem diejenigen Stämme in Betracht gezogen, welche in serologischer Hinsicht von den üblichen Paratyphus A und Paratyphus B (Schottmüller) abweichen. Zur speziellen Berücksichtigung solcher „atypischen" Stämme haben uns besonders Untersuchungen derjenigen Autoren Anlaß gegeben, die während der Icterusepidemien der letzten Jahre verschiedene Bazillen gezüchtet haben, welche in biochemischer Hinsicht der Paratyphusgruppe entsprachen, jedoch von den Immunsera A und B nicht agglutiniert wurden [Saraillhé und Clunet (1916), Cantacuzène (1918), Frugoni, Gardenghi, Ancona (1916)].

Außer Ty, Paraty A, Paraty B und B. enteritidis Gärtner wurden zur Gruber-Widal-Reaktion noch folgende Paratyphusstämme benutzt: 3 Stämme Paraty C (Hirszfeld), sowie Bakterien aus der Aertrycke-Gruppe: G, Reading, Hogcholera, East-Africa, Mutton, Witts blood, Witts urine, Stanley, Newport, Binns[1]).

Es stellte sich heraus, daß von diesen Stämmen B. Aertrycke Stanley in 56 von 67 Fällen, d. h. in 80 Proz., positive Agglutination ergab. Diese Agglutination mit Stanley wurde bei sporadischem „Icterus catarrhalis" wie auch bei epidemischen Fällen in gleicher Weise beobachtet. Manche Krankensera agglutinierten den Stanley-Stamm noch in einer Verdünnung von 1:6400. Kontrollversuche mit 85 „normalen" Sera ergaben nur in 3 Fällen eine positive Agglutination (bis 1:400) mit Stanley-Bazillen.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß Bazillen der Aertrycke-Gruppe, besonders aber dem Stamme Stanley nahestehende, eine Rolle in der Aetiologie der von uns untersuchten Icteruserkrankungen spielen. Weitere bakteriologische Untersuchungen haben diese Vermutung bestätigt. Aus dem Blute von 3 Schwerkranken mit ausgeprägtem Icterus gelang es uns, 3 Stämme von Bazillen zu züchten, von denen 2 biochemisch vollkommen

1) Die Stämme der Aertrycke-Gruppe wurden uns dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Schütze vom Lister-Institute (London) zur Verfügung gestellt.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem Paratyphus B entsprachen, jedoch serologisch zur Gruppe Paratyphus C[1]) (Hirszfeld) gehören. Der 3. Stamm ist serologisch mit dem Aertrycke Stanley nahe verwandt.

Stamm Nr. 14 wurde am 3. Tage der Krankheit aus dem Blute einer Rückwanderin aus Rußland (Woronesch) gezüchtet. Leber und Milz waren am Tage der Blutkultur stark geschwollen und schmerzhaft, ein starker Icterus war vorhanden. Fieber 39,5°. Die Blutkultur ergab stark bewegliche, gramnegative Bazillen, deren biochemische Eigenschaften der Paratyphus B-Gruppe entsprachen, die sich dagegen serologisch wie Paratyphus C verhielten. Dieselben Bazillen wurden gleichzeitig aus dem Harn dieser Pat. in Reinkultur gewonnen. Der Stamm Nr. 14 (Równe) wird von Immunserum Paratyphus C (Hirszfeld) und Anti-Witts-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert. Mit Hilfe der Absorptionsversuche konnten wir ihn mit dem Stamme Witts (Andrewes 1919) identifizieren.

Der nächste Stamm Nr. 88 (Kowel) ist ebenfalls von einem Gelbsuchtkranken, der aus Rußland (Wolgagebiet) kam, aus dem Blute am 12. Krankheitstage gezüchtet worden.

Die lebhaft beweglichen, gramnegativen Bazillen sind in biochemischer Hinsicht ebenfalls Paratyphus B, werden jedoch von den Immunsera der Paratyphus C-Gruppe (Paraty C, Hirszfeld, Stamm Nr. 14, Witts), agglutiniert. Die serologischen Eigenschaften des Stammes 88 konnten mit Hilfe der Absorptionsversuche nur schwer analysiert werden; er besitzt gemeinsame Rezeptoren mit dem reinen Paratyphus C (Hirszfeld), sowie auch mit Witts und unserem Stamm 14 (Równe).

Der 3. Stamm Nr. 465 wurde aus dem Blute einer Gelbsuchtkranken, die einer Familie angehörte, in der sich 7 Fälle einer schweren, akuten Krankheit ereigneten, von denen 2 tödlich verliefen. Unter sämtlichen Kranken dieser Hausepidemie entwickelten sich nur bei diesem Mädchen intensive Gelbsucht, Schwellung der Leber und der Milz, sowie subkutane Hämorrhagien. — Die beweglichen, gramnegativen Bazillen, welche am 8. Krankheitstage aus dem Blute gezüchtet wurden, besitzen biochemische Eigenschaften des B. Eberthi, werden aber außer vom Anti-Typhusserum auch vom Immunserum Aertrycke Stanley bis zu seiner Titergrenze stark agglutiniert. Absorptionsversuche haben eine nahe serologische Verwandtschaft zum Stamme Stanley bewiesen.

Die beschriebenen Stämme: Nr. 14 (Równe), Nr. 88 (Kowel), sowie Nr. 465 haben sich für Laboratoriumstiere als pathogen erwiesen. Kaninchen, denen die Bazillen intravenös injiziert wurden ($^1/_{20}$ Oese) starben innerhalb von 3 Tagen. Die histologische Untersuchung der Leber zeigte eine Vakuolisation und degenerative Veränderungen (trübe Schwellung) der Parenchymzellen. Stellenweise konnte man zerstreute nekrotische Herde im Leberparenchym, das mit lymphoiden Zellen infiltriert war, nachweisen. Die feineren Gallenwege waren vom Bindegewebe umwuchert und ihre Wandungen mit Rundzellen infiltriert (Pericholangitis). Ganz analoge Veränderungen haben wir in der Leber einer Frau, welche unter Erscheinungen einer schweren Gelbsucht zugrunde ging, festgestellt. Es ist anzunehmen, daß die Schädigung der Leberzellen direkt durch die im Blute kreisenden Bazillen in diesen Fällen hervorgerufen wird.

Außer diesen Stämmen wurden aus dem Harn Icteruskranker 4 Stämme von Bazillen gezüchtet, deren biochemische Eigenschaften ziemlich wechselnd sind: Nr. 20, 21 (Nowakowski) 23, 24. Ihre serologischen Eigenschaften sind deswegen schwer zu ermitteln, da diese Bazillen überhaupt sehr leicht agglutinieren, auch mit normalen Sera. Wir konnten nur feststellen, daß die Stämme Nr. 20 und 21 (Nowakowski, Równe), vom Paratyphus A-Serum am stärksten bis zur Titergrenze agglutiniert werden, während die Stämme Nr. 23 und 24 besonders von Paratyphusserum sich agglutinieren lassen. Aber auch diese Eigenschaften waren während längerer Weiterzüchtung unbeständig.

1) Näheres über den Stamm siehe später.

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Von den hier kurz beschriebenen Stämmen ließen sich am klarsten Nr. 14 (Równe) und 88 (Kowel) analysieren und in die Gruppe der Paratyphus C-Bazillen einreihen. Dieser Typus wurde zunächst von Hirszfefd (1916) in Macedonien, später (1918) von Mc. Adam in Mesopotamien aus menschlichen Erkrankungen isoliert und mit dem Namen Paratyphus C von diesen Forschern unabhängig bezeichnet. Es soll dabei besonders hervorgehoben werden, daß diese Bazillen mit denjenigen, welche Uhlenhuth (1918) im Darme gesunder Schweine und Menschen fand, und für die er damals die Bezeichnung Paratyphus C einführte, nichts Gemeinsames haben. Die große Vielgestaltigkeit im serologischen und biochemischen Sinne, die stets wachsende Anzahl der Paratyphusstämme. speziell derjenigen, welche während des Weltkrieges gefunden wurden, hat eine Systematik und Ordnung erfordert, was zum Teil auch erfüllt wurde. Die Stämme von Hirszfeld und Mc. Adam sind von Tenbroeck (1918, 1920) mit den Hogcholerabazillen identifiziert worden. Zu derselben Gruppe Paraty C hat Schütze (1920) einige Stämme zugerechnet, welche in Mesopotamien und Afrika isoliert wurden, sowie den Stamm Witts (Andrewes und Neave 1919).

Die Untersuchungen von Hirszfeld und Seydel (1921) haben bewiesen, daß Stämme, welche in Wolhynien und Albanien von Weil und Saxl (1917), sowie von Neukirch (1915) in Mesopotamien gezüchtet wurden und von den Autoren mit dem B. suipestifer Voldagsen identifiziert sind, dem Paratyphus C entsprechen. Die Untersuchungen von Hirszfeld und Seydel (1921) haben zur Orientierung in der bis jetzt ziemlich ungeordneten Paratyphusgruppe beigetragen und gleichzeitig die serologische Selbständigkeit der Paraty C-Gruppe bestätigt. Die Gruppe Aertrycke kann als Uebergang zwischen Paratyphus B und Paratyphus C betrachtet werden; sie ist nicht einheitlich und besteht sowohl aus Stämmen, die durch Paratyphus B-Immunsera agglutiniert werden, wie: Binns, Stanley, Mutton und Newport, als auch aus solchen, die dem Paratyphus C entsprechen, wie Witts.

Wir ersehen aus diesen Tatsachen, daß unsere bakteriologischen Befunde (Stämme 14 und 88) durch die agglutinierenden Eigenschaften der Icterussera eine Bestätigung erfahren, so daß wir behaupten können, daß in den von uns untersuchten Icteruserkrankungen Paratyphusbazillen, welche gemeinsame Rezeptoren mit der Gruppe Aertrycke einerseits (Stanley), sowie mit dem Paratyphus C (Hirszfeld) andererseits haben, eine ätiologische Rolle spielen.

Die Unkenntnis der neueren Arbeiten, hervorgerufen durch Schwierigkeiten in der Literaturbeschaffung, verschuldet die Einführung von neuen Typen und Bezeichnungen für bereits beschriebene Erreger, wodurch eine Verwirrung entstehen kann. Wir möchten daher zu den Arbeiten von Iwaschenzow, Kulesza und Rapaport (1922) Stellung nehmen. Diese Autoren haben aus Komplikationen des Rückfallfiebers Paratyphusstämme gezüchtet, welche durch die üblichen Paratyphus A- und Paratyphus B-Immunsera nicht agglutiniert werden und als Paratyphus N, N I und N II bezeichnet wurden. — Es war natürlich sehr wichtig und interessant, festzustellen, ob eine serologische Verwandtschaft dieser Stämme mit den schon bekannten existiert, und ob ihre Selbständigkeit sich aufrecht erhalten läßt. Dieser Versuch ist vor kurzem von Sütterlin (1923) gemacht worden, der die Gelegenheit hatte, die „Paratyphus N“-Bazillen sowohl mit den verschiedenen als

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

identisch mit Paratyphus C anzusehenden Stämmen (Glässer, Voldagsen, Erzindjan-Neukirch), sowie auch mit den von uns gezüchteten zu vergleichen.

Wir müssen bemerken, daß Sütterlin nur einen unserer aus dem Blute isolierten Stamm (Nr. 14) besaß, da die anderen 2: 88 und 465 erst später (1922) im Laufe der damals noch nicht abgeschlossenen Arbeit gezüchtet wurden. Die anderen 5 Stämme (aus dem Harn Ikterischer), welche gleichfalls durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Mühlens nach Rußland gelangten, haben sich im Laufe unserer weiteren Untersuchungen als nicht typisch für die Paratyphusgruppe herausgestellt, womit wir mit Sütterlin übereinstimmen.

Die agglutinatorischen Eigenschaften der 6 russischen Stämme und des unseren Nr. 14 (Równe) haben, wie die Tabelle von Sütterlin veranschaulicht, ergeben, daß sie sämtlich (mit Ausnahme von Nr. 2) durch das N-Krankenserum stark agglutiniert werden. Außerdem werden auch 4 von den russischen Stämmen von Glässer-, Voldagsen- und Erzindjan-Neukirch-Immunsera stark agglutiniert, so daß sie ohne Zweifel in diejenige Gruppe der Paratyphusbazillen hineinpassen, welche, wie wir oben schon betonten, dem Paratyphus B von Weil, Saxl, bzw. dem Paraty C (Hirszfeld) gleichzusetzen ist. Es ist deswegen wohl überflüssig, sie mit einem neuen Namen zu bezeichnen; man soll sie als Paratyphus C bezeichnen, wie englische Autoren nach dem Vorschlage von Hirszfeld und Mc. Adam schon längst tun.

Wie von uns durch Agglutinations- und Absorptionsproben bewiesen wurde, gehören unsere Stämme (14 und 88) ebenfalls zu dem Typus Paratyphus C.

Die Arbeit von Sütterlin bedarf jedoch noch einer Berichtigung. 1) Ist unsere vorläufige Mitteilung: „Untersuchungen über die paratyphöse Gelbsucht“, Warschau 1921 (polnisch), vom Verf. unrichtig als „Untersuchungen über das paratyphöse Gelbfieber“ übersetzt worden; — 2) handelt es sich bei unseren Untersuchungen durchaus nicht um Recurrenskomplikationen, wie Sütterlin angibt. Im Gegenteil sind unsere Stämme aus primären Erkrankungen mit Gelbsucht gezüchtet worden, was pathogenetisch von Bedeutung sein dürfte.

Literatur.

1) Anigstein, L., u. Milińska, Z., Badania nad żółtaczką paratyfusową. [Untersuchungen über die paratyphöse Gelbsucht. Vorläuf. Mitteil.] (Przegląd Epidemiolog. I. 1921. p. 636. (Poln.). — 2) Dies., Badania nad żółtaczkami pochodzenia bakteryjnego. [Untersuchungen über die Gelbsucht bakteriellen Ursprungs.] (Medycyna doświadczalna i społeczna. I. 1923. p. 32—78. [Poln.] — 3) Arzt, L., Ueber eine Epidemie von Icterus infectiosus in Süd-Mazedonien u. Albanien. (Wien. klin. Wochenschr. Nr. 30. 1917. S. 189.) — 4) Beyreis, O., Icterusepidemie. (Münch. med. Wochenschr. 69. 1922. Nr. 28.) — 5) Brugsch u. Schürer, Ueber gutartige epidemische Gelbsucht. (Berl. klin. Wochenschr. 56. 1919. S. 189.) — 6) Cantacuzène, J., Sur une épidémie d'ictère observée en Roumanie pendant la campagne de 1917. (Presse méd. 1918. p. 541.) — 7) Frugoni, Gardenghi, Ancona, Studi su l'ittero epidemico castrense. (Sperimentale. 70. 1916. p. 587.) — 8) Garnier, M., et Reilly, J., Le rôle des bacilles du groupe typhique dans l'étiologie de l'ictère infectieux primitif. (Rev. de Méd. 1920. Nr. 3.) — 9) Hirszfeld, L., A new germ of paratyphoid. (Lancet. 1919. I. p. 296.) — 10) Hirszfeld, L., u. Seydel, J., Z bakterjologji durów rzekomych. [Aus d. Bakteriologie des Paratyphus.] (Przegląd Epidemiolog. I. 1921. p. 532.) — 11) Iwaschenzoff, H. A., Wozwratnyj tif. i N-paratifobacilloz. [Das Rückfallfieber und die N-Paratyphusbazillose.] (Veröff. d. VI. allruss. Kongress. d. Bakteriol. u. Epidemiol. in Moskau. III. 1922. p. 18.) [Russisch.] — 12) Lewy, F. H., u. Schiff, F., Ueber menschliche Infektionen mit einem Bazillus der Paratyphusgruppe vom Typus Suipestifer. (Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 23. 1920. S. 46.) — 13) Müh-

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

lens, P., Mitteilungen vom VI. russischen Bakteriologen und Epidemiologenkongreß. (Ebenda. Bd. 26. 1922. S. 250.) — 14) Sarraillhé, A., et Clunet, I., La „jaunisse des camps" et l'épidémie de paratyphoide des Dardanelles. (Bull. et mém. Soc. méd. Hôp. de Paris. 1916.) — 15) Schütze, H., The paratyphoid B group. (The Lancet. I. 1920. p. 93.) — 16) Sütterlin, Th., Vergleichende Untersuchungen an russischen Paratyphusstämmen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 419.) — 17) Tenbroeck, Paratyphoid bacilli in Hogcholera. (Journ. exp. Med. Vol. 28. 1918. S. 59.)

Nachdruck verboten.

Erfahrungen mit Meinicke-Extrakten zur Serodiagnostik der Lues.

[Aus der inneren Abteilung des Marienhospitals Hagen i. W. (Leitender Arzt: Dr. Ritter).]

Von Dr. **Helmuth Hartenfels.**

Die Meinicke-Reaktion hat eine schnelle, wandlungsreiche Entwicklung hinter sich. Die zweizeitige Meinicke-Reaktion machte der „Dritten Modifikation" in einzeitiger Ausführung Platz, und kaum begann sie sich einzubürgern, da griff Meinicke den Doldschen Gedanken (1), die der Flockung vorhergehende Trübung abzulesen, auf und gab besondere Extrakte heraus, die er durch Cholestearinzusatz nach Sachsschem Vorgange und Versetzen mit Tolubalsam stärker verdünnungsfähig machte. Meinickes weitere Versuche ergaben bald, daß das „bekanntlich immer zu Unspezifitäten neigende Cholestearin" wegen der sowieso größeren Reaktionskraft seiner alkohol. Aetherrestextrakte aus Pferdeherzen überflüssig sei, und er veröffentlichte (2) seine Erfahrungen mit 2 cholesterinfreien Extrakten verschiedenen relativen Gehaltes an Lipoiden und Tolubalsam, mit denen er für die Seren verschiedener Reaktionsbereitschaft in der Mehrzahl aller Fälle optimale Mengenverhältnisse zwischen spezifisch reagierenden Serumkörpern und Extraktlipoiden zu erreichen strebte. Die Methodik der früheren Trübungsreaktion blieb unangetastet für diese cholesterinfreien Extrakte und bestand in Zusatz von 1 ccm einer Extraktverdünnung mit 2-proz. NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 10 zu 0,4 ccm inaktivierten Serums, 1maliger Ablesung nach 1-stünd. Brutschrankaufenthalt. In einem Nachtrage zu vorstehender Arbeit, der zusammen mit dieser den Extrakten als Gebrauchsanweisung beigegeben wird, gibt Meinicke für aktive Seren eine Sondervorschrift. Die Brutschrankmethode — einst Gegenstand einer Prioritätspolemik zwischen Sachs (3) und Meinicke (4) ist in dieser Sondervorschrift verlassen und Meinicke schreibt bei Verwendung von nur 0,2 ccm Serum und 3-proz. NaCl-Lösung den Aufenthalt des Systems bei Zimmertemperatur vor.

Wir stehen nicht an, zu erklären, daß nach unserer Ansicht Meinicke sich dadurch eines Vorzuges seiner Methodik begibt, den er selbst noch vor kurzem (Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 24) lebhaft betonte. Unsere eigenen Untersuchungen, über die wir später ausführlich berichten werden, haben uns die Zweckmäßigkeit der ursprünglichen Methodik M.s gelehrt. Es muß uns durchaus gefährlich erscheinen, die Brutschranktemperatur durch so hohe Steigerung der Fällungsbereitschaft

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Flockungssystemen zu ersetzen, wie M. das neuerdings tut (vgl. Meinicke, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 27, 28, 29).

Wir, die wir aus später zu erörternden Gründen prinzipiell mit aktiven Seren bei Brutschranktemperatur und 2—2,4-proz. NaCl-Lösung mit Erfolg arbeiteten (also nach der ursprünglichen Methodik), sehen weiterhin in der unspezifischen Globulinfällung eine Gefahr, die uns durch die Bequemlichkeit der Brutschrankersparnis nicht genügend kompensiert erscheint. Für ein Heruntergehen mit der Serummenge sprachen jedoch auch unsere Versuche. Pipettiert man nämlich ein zur Klarheit ausgeflocktes Serum ab und arbeitet mit ihm wie mit dem ursprünglichen Serum, so erreicht man fast immer eine erneute Reaktion des Systems, die nach Ablauf, Stärke, Aussehen der Flocken und Verhalten des Flockungszustandes auf Temperaturerhöhung spezifisch zu sein scheint. Aus der Unmöglichkeit, diesen Versuch mit demselben Serum ein zweites Mal anzustellen und der Unmöglichkeit, ein ausgeflocktes System in analogem Vorgange durch Zusatz positiven Serums zu erneuter Reaktion zu bringen, schlossen wir auf völligen oder nahezu völligen Verbrauch der Extraktlipoide und Ueberschuß an spezifischen Serumkörpern in den meisten Systemen. Auch wir hätten darum vorgeschlagen, mit der Serummenge herunter oder der Extraktmenge herauf zu gehen, um möglichst eine totale Bindung aller reaktionsfähigen Elemente zu erreichen.

Auf Grund dieser Ueberlegungen mußte uns der Vorschlag Hohns (5), bei 0,4 ccm Serum mit 0,25 ccm Extraktverdünnung im Lupenflockungsstadium, also mit einem 8-fachen Serumüberschuß gegenüber Meinicke, zu arbeiten, in seiner Zweckmäßigkeit zweifelhaft erscheinen. Entsprechende Versuche bestätigten das. Es gelang niemals, auch nur annähernd die Promptheit und Deutlichkeit der Original-M.T.R. nach der Modifikation Hohns zu erreichen.

Wie bereits früher erwähnt, sind unsere Meinicke-Reaktionen sämtlich mit aktiven Seren angestellt, sowohl unter Verwendung der cholesterinierten wie der cholesterinfreien Extrakte, mit denen zu arbeiten wir, dank der Liebenswürdigkeit Dr. Meinickes, lange vor ihrer Herausgabe Gelegenheit hatten.

Die Gründe waren folgende: Gleich bei Aufnahme der Versuche mit der M.T.R. beobachteten wir bei einem Teil der Seren, die wir als absolut einwandfrei negative, bei 55° C inaktivierte Testseren mitlaufen ließen, unmittelbar nach dem Vermischen mit der Extraktverdünnung eine Trübung, die bei einem Teil der Seren im Brutschrank innerhalb 10 Min. bis $1^1/_2$ Std. wieder schwand, in der Mehrzahl der Fälle jedoch bestehen blieb und nach 16 Std. ausgeflockt war. Die Flockung erwies sich als thermoreversibel. Als trotz saubersten, methodikgetreuesten Arbeitens diese Erscheinung immer wieder auftrat, suchten wir ihre Quelle zunächst in der Entnahmezeit des Serums. Aber es zeigte sich, daß Nüchternserum und ein Serum der gleichen Person 3 Std. nach der Aufnahme von 300 g gebratenen Schweinehirns (62,6 Proz. Lipoide in der Trockensubstanz, v. Noorden) zwar recht verschieden aussahen, aber gleichartig negativ bei aktiver, gleichartig unspezifisch positiv bei inaktiver Verwendung reagierten. Alles wies nunmehr auf den Inaktivierungsvorgang als Fehlerquelle hin.

In großen Serien angestellte Untersuchungen ergaben zunächst, daß inaktive Seren ganz allgemein stärker und schneller reagieren als aktive, des weiteren aber ergab sich, daß die maximale Temperaturgrenze für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das Inaktivieren bei Trübungssystemen zwischen 53 und 55° C liegt. Alle Seren, die zwischen 50 und 53° C „inaktiviert“ waren, ergaben ein Verhalten, das völlig dem der aktiven Seren glich; bei $^1/_2$-stünd. Inaktivieren zwischen 55 und 56° C erhielten wir einige, zwischen 56 und 57° C vielfache, zwischen 57 und 57,5° C fast stets unspezifische Trübungsreaktionen. Interessant war uns, feststellen zu können, daß sich bei einigen Seren die Einwirkung einer Temperatur von 55° auf 10 Min., bei anderen die Einwirkung von 56° auf 5 Min. bereits als schädigend im obigen Sinne erwies. Jenseits 57,5° C sahen wir die Häufigkeit unspezifischer Reaktionen, zugleich aber auch die Reaktionsbereitschaft der Seren rasch abnehmen.

Die auffällige Tatsache, daß Meinicke niemals vor uns einen ähnlichen Befund erhob, erklärt sich aus der Quelle seines Serummaterials, das er als Reste von Seren, die für die WaR. inaktiviert wurden, vom Hagener Bakteriologischen Institute erhielt. Nach unseren Erkundigungen wird dort bei 53—55° C inaktiviert. Seine eigenen Seren inaktivierte Meinicke (Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 2) bei 50° C, einer Temperatur, die, jedenfalls für die M.T.R., ohne Einfluß auf Stärke und Schnelligkeit des Reaktionsablaufs ist, mithin wohl kaum Inaktivieren bedeutet.

Eine einwandfreie theoretische Erklärung für unsere Befunde ist schwer anzugeben. Bei der Schwierigkeit, zu bestimmen, welche chemischen Körper, welche Abbau- oder Aufbaustufen sich im Momente der Blutentnahme im Kreislauf befinden, durfte die Möglichkeit nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen sein, daß es sich bei solchen Unspezifitäten um die Reaktion thermolabiler Serumkörper handelt, vielleicht einer koagulablen N-Verbindung oder eines ungesättigten Phosphatids, die bei Temperaturen zwischen 55 und 58° C serumlösliche Verbindungen oder Strukturfragmente bilden, und durch das Hinzutreten von Extraktlipoiden in den thermoreversiblen Gel-Zustand übergehen. Vielleicht ist auch die Verstärkung der Reaktion durch das Inaktivieren auf die Mitwirkung eines wärmeveränderten Körpers bei der Flockung zurückzuführen. Auf die Möglichkeit einer Reaktion des Serumcholestearins in freier und veresterter Form, dessen Mengenverhältnis durch Nahrung und alle möglichen anderen Umstände beeinflußt wird (6), möchten wir hinweisen.

Auf Grund unserer Befunde lehnen wir das Arbeiten mit inaktivierten Seren für die M.T.R. als überflüssig und gefährlich ab, weil ein zeitweiliges Ueberschreiten der zulässigen Höchsttemperatur nur in wenigen Laboratorien sicher auszuschließen ist, zumal bei der Kostspieligkeit solcher Apparaturen, und da wir ein „Inaktivieren“ bei 50° C nur als „symbolische Handlung“ für die M.T.R. anzusehen vermögen! Die schwächere Reaktion aktiver Seren wurde dadurch kompensiert, daß wir dem System statt 1 Std. bis zu 3 Std. Zeit zur Bindung gaben, wie wir uns überhaupt mit dem „Schnellverfahren“ Meinickes (Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 19) nicht haben befreunden können.

Auf diese Weise sind die serodiagnostischen Resultate gewonnen, über die weiter unten berichtet ist. In seiner jüngsten Arbeit (7), die infolge Verzögerungen in der schriftlichen Niederlegung unserer Befunde vor dieser Veröffentlichung erschien, hat Meinicke bereits die Konsequenzen aus unseren, ihm mündlich mitgeteilten Ergebnissen gezogen, indem er für seine Trübungsreaktion nach unserem Vorgange auf das Inaktivieren als auf eine überflüssige Fehlerquelle verzichtet.

Mit Epstein und Paul (8) müssen wir das von Klostermann und Weisbach (9) behauptete Vorhandensein eines komplexen Eiweißkörpers in den Meinicke-Extrakten und die Bedeutung eines solchen

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Körpers für den Flockungsvorgang und seine Vorstufen leugnen, da es auch uns nicht gelang, denselben in dem Abdunstungsrückstand von 100 ccm Extrakt mit der Biuret-, Moli- und Sulfosalicylsäure-Probe nachzuweisen. Bei der M.T.R. wird 1 ccm einer 10-fachen Verdünnung des Extraktes zur Anwendung gebracht, und Klostermann und Weisbach glauben, daß bei dieser Reaktion die Eiweißspuren als Flockenbildner in Frage kommen, die in 1 ccm einer 10-fachen Extraktverdünnung sein könnten, wenn im Rückstand von 100 ccm des unverdünnten Extraktes Eiweiß nicht in Spuren nachweisbar ist.

Allerdings möchten wir an die wesentliche Beteiligung eines Serumeiweißkörpers beim Flockungsvorgang glauben, im Gegensatz zu Lieb, Niederhoff und Epstein und Paul (8), bei dem wir auch die vorgenannten Autoren zitiert finden. Jedenfalls möchten wir darauf hingewiesen haben, daß wir — anders als Meinicke (10) einen auffälligen Parallelismus zwischen dem Verhalten der M.T.R. und der einfachen chemischen Globulinfällung bei Temperaturerhöhung fanden. Für die einfache chemische Globulinfällung haben Sachs, Teruuchi und Altmann (11) gezeigt, daß Temperaturerhöhung mit Hemmung einhergeht. Uns fiel es auf, daß das Ueberschreiten einer Temperatur von 37,5° C bei der Bebrütung nicht nur nicht die Gefahr einer unspezifischen Reaktion mit sich brachte — wie Meinicke fand (10), sondern daß im Gegenteil jenseits 37—38° C der Reaktionsablauf gehemmt war und eine bereits eingetretene, einwandfrei spezifische Reaktion sich sogar aus dem Zustande beginnender Schwebeflockung durch Temperaturen zwischen 38,5—42° C rückwärts bis zu völligem Wiederklarwerden des Systems entwickeln ließ. Wir verzichten darauf, uns in diese noch ungeklärten Fragen zu verlieren.

Wenige Worte noch zur Frage der Kontrollen: Wir sind mit Dold (12), Keining und Wester-Ebbinghaus (13) u. a. der Ansicht, daß selbst der Geübte zuf Kontrollen nicht absolut verzichten sollte. Uns sind — allerdings nur selten — Trübungen vorgekommen, die nach $1^1/_2$ Std. im Brutschrank wieder verschwunden waren, häufiger aber, durch ungeschickt gewählte Entnahmezeit, chylös getrübte Seren, die trotz der starken Deckkraft der Meinicke-Extrakte uns ohne Kontrollen bei schwacher Reaktion in arge Verlegenheit brachten. Wir halfen uns mit der Doldschen Formolkontrolle (14), die Keining und Western-Ebbinghaus für die M.T.R. unwesentlich abänderten. Für die völlig klaren Seren jedoch verzichteten wir auf Kontrollen, es sei denn durch bekannte Seren, da allerdings der Unterschied zwischen klar und getrübt für solche Seren ohne weiteres evident ist. Als überaus zweckmäßig hat sich uns das von Meinicke empfohlene Arbeiten mit 2 Extrakten verschiedenen relativen Lipoid- und Balsamgehaltes erwiesen. Die Wirkungsbreite der Meinicke-Extrakte wird in der Tat dadurch größer. Bei den 8- und 16-fachen Verdünnungen des Originalextraktes, die Meinicke in den Handel bringt und empfiehlt, haben wir Unspezifitäten nie beobachtet, und wir glauben sogar, die von uns geübte Methodik, zunächst erstmalig nach 3 Std., dann die Röhrchen mit dem schwachen Extrakte am nächsten Morgen zur Kontrolle als Flockungsreaktion abzulesen, mit ruhigem Gewissen empfehlen zu können. Allerdings nur als Bestätigung, nie als alleinigen Befund.

Wir geben zum Schlusse in Kürze unsere mit aktiven Seren, nach 3-stünd. Bebrütung bei 0,4 ccm Serum und 2—2,4-proz. NaCl-Lösung mit cholesterinfreien Meinicke-Extrakten gewonnenen Resultate wieder.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben unsere vorstehenden Erfahrungen, gewonnen an rund 4000 Serumproben, bei bisher 604 Fällen angewandt, und zwar bei Luesverdacht zur Sicherung der Diagnose, bei klinisch und serologisch einwandfreier Lues zur Prüfung des Heilerfolges und bei akut fieberhaften Erkrankungen zur Aufdeckung von Unspezifitäten:

1) 256 Fälle mit manifester Lues ergaben Uebereinstimmung der M.T.R. mit der WaR. in sämtlichen Fällen.

2) 192 Fälle wurden mit unklarer Diagnose eingeliefert und durch die M.T.R. als Lues eruiert. Uebereinstimmung mit Kontroll-WaR. 189.

Von den 3 nicht übereinstimmenden Fällen war der eine nicht aufzuklären, die beiden anderen sprachen durch die prompte Wirkung kleiner Salvarsanmengen für eine Ueberlegenheit der M.T.R.

3) 156 Fälle mit nicht luetischen Erkrankungen wurden auf unspezifische Reaktion der M.T.R. untersucht. Darunter war:

40mal akute und chronische Go.,
28 „ schwere, doppelseitige Lungenphthise,
24 „ funkt. Nervenleiden,
8 „ Seren, die zu therap. Injektion dienen sollten,
je 6 „ Ischias und Arteriosklerose,
„ 5 „ Pneumonie und Ulcus molle,
„ 4 „ Scharlach und Typhus,
„ 3 „ Schrumpfniere, Nephritis und Erysipel,
„ 2 „ Urämie, CO_2-Vergiftung, Leberca, Aneurysma, pern. Anämie.
9 „ Lenta — Sepsis, Myxödem und unklare Diagnose.

Bei sämtlichen Fällen der letzten Reihe war die M.T.R. einwandfrei negativ und entsprach damit völlig dem klinischen Bilde und dem Verlaufe. Eine Kontrolle durch die WaR., die für einige der angeführten Erkrankungen von großem Interesse gewesen wäre, unterblieb aus Sparsamkeitsrücksichten. Ein Fall von Go., der +++ M.T.R. zeigte, bei negativem Wassermann, rechtfertigte nach 3 Wochen durch das Auftreten eines Exanthems und nässender Papeln den M.T.R.-Befund.

Besondere Erwähnung verdient noch der Befund, daß wir bei unseren 28 Fällen schwerster Tuberkulose den von Lydia Rabinowitsch-Kempner (15) für die S.G.R. erhobenen Befund einer nach 2 Std. auftretenden flüchtigen Flockung für die M.T.R. in keinem Falle bestätigen konnten. Ein immerhin merkwürdiger Befund, da Rüscher (16) neuerdings über Fälle von unspezifischer Flockung bei Tuberkulose auch für Meinicke-Extrakte berichtete.

Unser Prüfungsbefund deckt sich mit den von Klein (17) und Förtig (18) für die M.T.R. nach ursprünglicher Technik veröffentlichten guten Ergebnissen. Trotz unserer Erfolge mit der M.T.R. erscheint uns die Einleitung einer antiluetischen Kur lediglich auf Grund eines positiven Ausfalls der M.T.R. gewagt und nicht ohne Bedenken; dagegen halten wir die Anstellung der WaR. bei negativem Ausfall der M.T.R. für nicht erforderlich, da uns die Trübungsreaktion im allgemeinen schärfer anzuzeigen scheint als die Komplementbindung.

Trotz des kleinen Materials stehen wir nicht an, die M.T.R. als durchaus brauchbar zur Serodiagnostik der Syphilis, auch im kleinen Laboratorium, zu empfehlen.

Zusammenfassung.

1) Als maximale Inaktivierungstemperatur für die M.T.R. wird 55° C, als minimale 53° angegeben. — 2) Die inaktive Arbeitsmethode wird für die M.T.R. als überflüssig und gefährlich abgelehnt. — 3) Anwendung von Zimmertemperatur.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

allzu hohe Steigerung des NaCl-Titers im Flockungsmedium erscheint unzweckmäßig. — 4) Unspezifische Ausschläge bei anderen Erkrankungen wurdes nicht beobachtet, die von anderer Seite berichteten Beobachtungen bei Tuberkulose konnten nicht bestätigt werden. — 5) Vor kontrolllosem Ablesen nach 1 Std. wird wegen hin und wieder auftretender flüchtiger Trübungen gewarnt. Kontrolle des M.T.R.-Befundes bei positivem Ausfall wird dringend empfohlen; bei negativem Resultat erscheint sie überflüssig. — 5) Es wird über gute Ergebnisse nach der ursprünglichen Methodik bei Verwendung aktiver Seren berichtet.

Literatur.

1) Med. Klin. 1921. Nr. 31. — 2) Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 2. — 3) Ebenda. 1922. Nr. 27. — 4) Ebenda. 1922. Nr. 34. — 5) Münch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 51. — 6) Groß, O., Klin. Wochenschr. Jg. 2. Nr. 5. — 7) Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 19. — 8) Ebenda. 1922. Nr. 49. — 9) Ebenda. 1922. Nr. 4. — 10) Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 28. 1919. S. 280. — 11) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. Beih. 1908. S. 174. — Biochem. Ztschr. Bd. 78. 1916. S. 46. — 12) Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 24. — 13) Ebenda. 1922. Nr. 46. — 14) Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 8. — 15) Ebenda 1922. S. 381. — 16) Ebenda. 1923. Nr. 9. — 17) Ebenda. 1923. Nr. 8. — 18) Ebenda. 1923. Nr. 6.

Nachdruck verboten.

Ueber die Sachs-Georgi-Syphilisreaktion.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Von **M. Isabolinsky** und **W. Gitowitsch.**

Die Bestrebungen vieler Forscher, die komplizierte Methodik der Syphilisserumreaktion nach Wassermann zu vereinfachen und sie der praktischen Anwendung zugänglicher zu machen, haben seit der Veröffentlichung dieser Reaktion durch Wassermann und seine Mitarbeiter nicht aufgehört. Bekanntlich wurde zunächst versucht, den künstlichen Ambozeptor und das künstliche Komplement durch den natürlichen im Blute des Menschen und Tieres vorhandenen Ambozeptor und das natürliche Komplement zu ersetzen. Diese Versuche hatten aber keinen Erfolg, da sie einen verschiedenen Einfluß auf die Genauigkeit und Richtigkeit der Reaktionsresultate ausübten. Es begannen dann die theoretischen Grundlagen der Reaktion in dem Sinne der strengen Spezifität des Antikörpers und Antigens zu schwanken, und im Einklang hiermit entstand eine neue Lehre über das Wesen der Reaktion, die das Wesen der Reaktion vom chemisch-biologischen Standpunkte aus betrachtet. Auf Grund einer ganzen Reihe von Untersuchungen kam man zu dem Schlusse, daß an der Reaktion keine Eiweißsubstanzen, sondern Lipoidkörper teilnehmen. Dieser Umstand hat einerseits Veranlassung gegeben, verschiedene künstliche und natürliche lipoidhaltige Stoffe als Antigen zu verwenden, und andererseits Versuche angeregt, die Reaktion durch eine einfahe Präzipitationsreaktion zu ersetzen.

Einer von uns (M. Isabolinsky) hat sich bereits im Jahre 1909 in einer speziellen Arbeit, die in der Zeitschr. f. Immunitätsf. erschienen ist, über den Wert des Ersatzes des syphilitischen Antigens bei der WaR. durch verschiedene künstliche Antigene geäußert. Erwähnt sei, daß der Gedanke, die WaR. durch eine Präzipitationsreaktion zu ersetzen, zuerst von Fornet und Schereschewsky ausgesprochen wurde. Dieser Gedanke hat aber in einer ganzen Reihe von Kontrolluntersuchungen keine Bestätigung gefunden. Eine größere Bedeutung in der Syphilisdiagnostik gewann die Präzipitationsmethode mittels Lecithin nach Porges und Meier, ferner die Präzipitation mittels glykokollsauerem Natrium nach Elias, Neibauer, Porges und Salmon. Endlich haben Noguchi, Nonne und Apelt eine Präzipitationsreaktion mit Cerebrospinalflüssigkeit bei syphilitischen Erkrankungen des Zentralnervensystems vorgeschlagen, zu welchen Zwecken sie Buttersäure mit schwefelsaurem Natron oder Ammonium be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nutzten. Alle diese Modifikationen und Vereinfachungen erwiesen sich jedoch nicht streng spezifisch und erfahren deswegen keine praktische Anwendung. Man ist alsdann wieder zur ursprünglichen Methodik der Serodiagnose zurückgekehrt, wie sie von Wassermann vorgeschlagen war, und die sich als viel mehr spezifisch im Sinne der praktischen Anwendung erwiesen hat. Es folgte nun eine Periode des Stillstands, die mit der Aufklärung über das Wesen der Wassermannschen Reaktion und mit dem Studium der biologischen Prozesse, die im menschlichen Organismus unter der Wirkung des syphitischen Virus sich abspielen, sich beschäftigte.

Die neuesten Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Kolloidchemie und ihre Anwendung zur Erklärung der verschiedenen physikalisch-chemischen Prozesse, die sich im Organismus abspielen, hat von neuem einen Anstoß zur Erklärung des Wesens der Syphilisdiagnostik gegeben; gleichzeitig wurde auch die Frage, Präzipitationsmethoden zum Ersatz der komplizierten und mühsamen Wassermannschen Reaktion heranzuziehen, erneut in Angriff genommen. Besondere Anregung hierzu gab auch der Umstand, daß in der Nachkriegsperiode die Reaktionsingredientien im Preise sehr stiegen und schwerer erhältlich waren. Heute verfügen wir bereits über eine ganze Reihe neuer Reaktionen für die Syphilisdiagnose, die auf dem Präzipitationsprinzip beruhen. Die größte Aufmerksamkeit beanspruchen zweifellos die Reaktionen nach Sachs-Georgi und nach Meinicke. Die meisten Forscher sind der Ansicht, daß der Mechanismus der WaR. mit dem bei der Reaktion nach Sachs-Georgi identisch ist; wie dort, so auch hier haben wir es mit einer Veränderung des Kolloidalzustandes der Syphilitikersera zu tun, wobei dieselben eine Einwirkung der Extraktlipoide erleiden. Als Resultat solcher Einwirkung kommt eine Veränderung der „Dispersion" der Serumglobuline zustande, welche bis zu gewissen Grenzen unsichtbar und Ursache der Komplementbindung ist; dann wird die Veränderung der „Dispersion" als Flockenbildung sichtbar. Es ist also der Unterschied zwischen diesen Reaktionen ein rein quantitativer, nicht aber qualitativer; die Komplementbindungsreaktion ist das Resultat der Veränderung des Serumkolloidzustandes im früheren Stadium des Prozesses, welche im weiteren in die Form der Ausflockungsreaktion übergeht. Inwieweit nun diese theoretische Erklärung des Mechanismus der Wassermann- und Sachs-Georgi-Reaktion überzeugend ist, ist schwer zu sagen, jedenfalls ist diese Erklärung von großem Interesse, und wir werden weitere experimentelle Untersuchungen zu ihrer Bestätigung erwarten. Was die praktische Anwendung der Reaktion nach Sachs-Georgi bei der Syphilisdiagnostik anbelangt, so liegen bereits eine ganze Reihe von Nachuntersuchungen vor. Obwohl die Mehrzahl der Autoren beim Vergleich beider Reaktionen die Sachs-Georgi-Reaktion in 70—90 Proz. aller Syphilisfälle spezifisch fanden, so empfehlen doch alle, diese Reaktion nicht ohne gleichzeitige Anwendung der WaR. anzustellen. Der Umstand, daß Mitteilungen erschienen, die auf die Unspezifität der Ausflockung bei der Sachs-Georgi-Reaktion hinwiesen, zwingt dazu, neben dieser Reaktion stets die WaR. auszuführen. So bekamen Blumenthal, Schöntel, Robitschek positive Resultate bei Krebs, Tuberkulose und Fiebernden. Baumgärtel, Gaethgens und andere erzielten positive Resultate bei Ulcus molle. Um unspezifische Ausflockungen zu vermeiden, empfehlen Sachs und Georgi, die Versuche im Thermostat während 24 Stunden aufzubewahren, was wesentlich die Zahl der unspezifischen Ausflockungen erniedrigt. Tatsächlich bestätigen die nachfolgenden Arbeiten in dieser Richtung den Vorschlag der Autoren, schließen aber die Möglichkeit unspezifischer Flockenbildungen auch bei Aufbewahrung während 48 Stunden im Thermostat nicht aus. Trotz der zahlreichen Literatur, die über die Reaktion nach Sachs-Georgi erschienen ist, ist es sehr schwer darüber zu entscheiden, ob die Reaktion der WaR. gleichwertig ist, und ob sie bei der Syphilisserumdiagnose überhaupt brauchbar ist. Es wird keine definitive Meinung über diese Reaktion ausgesprochen, da die Aufmerksamkeit der Forscher durch eine analoge Reaktion, die Meinicke vorgeschlagen, und die viel mehr Anhänger als die Reaktion nach Sachs-Georgi gefunden hat, abgelenkt worden ist.

Wir haben 250 Sera nach Sachs-Georgi und gleichzeitig nach Wassermann untersucht. Die Hauptaufmerksamkeit haben wir der Zubereitung des für die Reaktion notwendigen Rindherz (Ochs) geschenkt. Bei dieser Zubereitung folgten wir den Angaben der Autoren der Reaktion selbst und anderen Angaben zu dieser Frage von A. Ermiloff, A. Notidze, M. Neschzodimenko und Ssistak, endlich der vor kurzem erschienenen Arbeit von P. S. F. Vermast aus dem Laboratorium von Prof. Saltet in Amsterdam, die ausschließlich der Zubereitung des cholesterinisierten Extraktes gewidmet ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ist notwendig zu bemerken, daß die Vorbereitung eines für die Reaktion brauchbaren Extraktes eine schwierige Aufgabe ist und viel Aufmerksamkeit und große technische Erfahrungen verlangt. Nach einer ganzen Reihe von mißlungenen Versuchen bekamen wir endlich ein Extrakt, dessen beste Dosis sich bei der Prüfung an 20 Seren (nach Wassermann 10 positive und 10 negative) aus der dritten Serie der Alkoholverdünnung beim Hinzufügen 1-proz. Cholesterinlösung ergab.

Zum Versuch nahmen wir 0,5 ccm des 6fach mit physiol. NaCl-Lösung verdünnten Extraktes, zu dem wir 1 ccm des Prüfungsserums, das während 15 Minuten bei 56° inaktiviert war, hinzufügten. Die Versuche blieben während 24 Stunden bei 37° im Thermostat, dann wurden die Resultate notiert, zur Kontrolle wurden gleichzeitig Serum ohne Extrakt und Extrakt ohne Serum untersucht. Die WaR. wurde streng nach der ursprünglichen Methode angestellt. Unter 250 untersuchten Fällen bekamen wir in 172 (= 70 Proz.) einen vollkommenen Parallelismus zwischen der WaR. und Sachs-Georgi-Reaktion. Aus der uns zur Hand stehenden Literatur sehen wir, daß der Prozentsatz der bei beiden Reaktionen übereinstimmenden Resultate bei uns etwas niedriger ist als bei anderen Autoren, bei denen er zwischen 77 und 98 Proz. schwankt.

In 17 Fällen ergab uns die WaR. ein positives Resultat, während die Sachs-Georgi-Reaktion negativ ausfiel. In 12 von diesen 17 Fällen war die klinische Luesdiagnose mit Sicherheit zu stellen, in 5 Fällen war sie zweifelhaft. In 26 Fällen gab die WaR. ein negatives, Sachs-Georgi aber ein positives Resultat. In 7 von diesen 26 Fällen war die klinische Diagnose unklar, in den übrigen 19 Fällen handelte es sich um behandelte Syphilisfälle. Wir sehen daraus, daß die Sachs-Georgi-Reaktion um etwa 3,5 Proz. empfindlicher als die WaR. ist. Unter unseren 250 Seren waren 29 sicher tuberkulöse ohne jeglichen Verdacht auf Syphilis; 23 von diesen erwiesen sich nach Sachs-Georgi positiv, was 70 Proz. ausmacht. Eine analoge Prozentzahl positiver Resultate bei Tuberkulosis bekamen Wolf, Blumenthal und andere Autoren. Außerdem erhielten wir ein positives Resultat nach Sachs-Georgi in einem Fall von Krebs der Speiseröhre, in zwei Fällen von Ulcus ventriculi, in zwei Fällen von Ulcus molle und in einem Sarkomfall, die WaR. erwies sich in den letzten 35 Fällen absolut negativ. Diese Fälle beweisen, daß die Reaktion nach Sachs-Georgi nicht streng spezifisch für Syphilis ist; ganz richtig ist daher der Vorschlag von Wassermann, die Resultate der Reaktion sehr vorsichtig zu bewerten, da Sera, die sehr reich an Eiweiß, Fermenten und Salzen sind, leicht unspezifischen Flockenausfall verursachen können.

Auf Grund unserer Untersuchungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Die Sachs-Georgi-Reaktion ergab nur in 70 Proz. der Fälle Uebereinstimmung mit der WaR.

2) Die Sachs-Georgi-Reaktion erwies sich etwas empfindlicher als die WaR. (auf 3,5 Proz.) in Fällen von behandelter Syphilis.

3) Der hohe Prozentsatz an positiven Resultate der Sachs-Georgi-Reaktion bei Tuberkulose und anderen Erkrankungen vermindert wesentlich ihre Spezifität für Syphilis.

4) Im besten Falle kann die Sachs-Georgi-Reaktion nur als Ergänzung in einigen Fällen zur WaR. dienen.

5) Der WaR. muß die dominierende Rolle bei der Syphilisdiagnostik angehören.

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber die Sterilität des Virus fixe.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Von **M. Isabolinsky.**

1921 berichtete Kühne in der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten aus der Pasteurschen Abteilung des Kochschen Instituts zu Berlin über die Sterilität des Kaninchenrückenmarkes, das bei der Wutschutzimpfung zur Anwendung gelangt.

Diese Versuche stellte Kühne am frischen, getrockneten und glyzerinisierten Rückenmark an und fand, daß frisches Rückenmark in 83,3 Proz., getrocknetes in 80 Proz. und glyzerinisiertes in 68,7 Proz. durch Begleitbakterien verunreinigt war. Bei dieser Prüfung auf Sterilität konnte er verschiedene Stäbchen, Sarzine und in seltenen Fällen Streptokokken nachweisen. Die Herkunft dieser Bakterien erklärt Kühne ausschließlich durch ihr Eindringen aus dem Verdauungskanal der Kaninchen während der Agonie. Diese Begleitbakterien können zu kleinen Rötungen und Infiltraten, zuweilen aber auch zu tiefen Abszeßbildungen an der Impfstelle führen. Im Gegensatz zu Kühne verneint Lubinski aus der Pasteurschen Abteilung des Hygienischen Instituts zu Breslau die Möglichkeit der Bakterieninvasion aus dem Darmkanal in das Rückenmark; er sieht die Ursache dieses hohen Prozentsatzes der Verunreinigung, wie ihn Kühne feststellte, in der Unvollkommenheit der technischen Methoden der Verarbeitung des Rückenmarkes. Bei Beachtung aller notwendigen aseptischen Kautelen kann der Prozentsatz der Verunreinigung bis zu einem Minimum, nach seinen Beobachtungen bis 20 Proz., herabgesetzt werden.

Ich selbst habe bereits seit vielen Jahren systematische Kontrolluntersuchungen des Rückenmarkes der Kaninchen, die mit dem Virus fixe geimpft waren, auf Sterilität unternommen. Um den Impfstoff aus dem Rückenmark zu bekommen, werden die Kaninchen im Agoniestadium, bei ausgesprochenem Bilde der paralytischen Form der Wut, getötet, was gewöhnlich am 7. Tage nach der Impfung des Virus fixe unter die Dura mater geschieht.

Das nach Ochhida frisch entnommene Rückenmark wird mit allen aseptischen Kautelen auf Bouillon und Agar geimpft. 1—2 Tage später wird aus dem getrockneten Mark eine zweite Kontrollimpfung auf Bouillon und Agar gebracht. Nur bei absoluter Sterilität beider Kontrolluntersuchungen wird das Mark zur Bereitung des Impfstoffes verwendet. Meine Beobachtungen, die ein größeres Material umfassen, zeigen, daß bei Gebrauch der oben beschriebenen Methodik das Rückenmark in 92 Proz. steril bleibt; was die übrigen 8 Proz. betrifft, so fand ich Verunreinigungen mit Mischbakterien, hauptsächlich Staphylokokken, und sehr selten mit Streptokokken. Selbstverständlich wurde solches Mark als Impfstoff nicht verwendet. Diese Verunreinigung entsteht nur als Folge von äußeren Bedingungen, hängt aber nicht von Vorgängen, die im Kaninchenorganismus sich abspielen, ab. Ich habe eine ganze Reihe von Blutuntersuchungen bei einer großen Kaninchenzahl unternommen und konnte in keinem Falle Bakterien nachweisen. Eine andere Ka-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ninchenserie wurde nach dem Tode (an paralytischer Wut) obduziert; alsdann wurde das Rückenmark kulturell in verschiedenen Perioden nach dem Tode untersucht. Diese Untersuchungen gaben weniger günstige Resultate als die Blutuntersuchungen, und zwar waren sie abhängig von der Zeit, die zwischen Tod und Obduktion verstrichen war. Je länger diese Periode war, desto eher war eine Verunreinigung des Markes mit Mischbakterien eingetreten, hauptsächlich mit Staphylokokken und Bact. coli. Das Vorhandensein der letzteren beweist, daß in einigen Fällen ihr Eindringen aus dem Darmkanal möglich ist; es kommen aber auch andere Momente noch in Frage, was weiterem Studium unterliegt. In dieser Versuchsserie ist der Prozentsatz der Verunreinigung 15—20 Proz., fast 2—3mal größer als in der vorangehenden Versuchsserie. Man muß bemerken, daß das Trocknen über Kalilauge keinen Einfluß auf das Wachstum der Mischbakterien hat und ihre Virulenz nicht vermindert, was den Beobachtungen Kühnes widerspricht. Was das Passagevirus (Medulla oblongata der Kaninchen) anbetrifft, so konserviere ich es gewöhnlich in Glyzerin. Bei der Entnahme der Medulla oblongata bestehen viel mehr Möglichkeiten zur Verunreinigung mit Nebenbakterien, als beim Herausschieben des Rückenmarkes. Die Beimpfung verschiedener Nährböden mit dem verlängerten Mark gab mir einen viel höheren Prozentsatz von Verunreinigungen mit Nebenbakterien (35—40 Proz.). Die Kaninchenimpfung mit diesem Passagevirus wirkt jedoch in keinem Falle auf das Wutkrankheitsbild, und andererseits kann das bei diesem Kaninchen entnommene Rückenmark sich ganz steril erweisen, wenn nur das Kaninchen während der Agonie getötet war.

Wenn dagegen das Rückenmark solcher Kaninchen einige Stunden nach dem Tode entnommen wurde, so erwies es sich als verunreinigt und zur Impfstoffbereitung unbrauchbar. Meiner Meinung nach haben wir es hier nicht mit einem Eindringen von Bakterien aus dem Darmkanal zu tun, sondern es besteht vielmehr die Möglichkeit eines Bakterienübergangs aus dem infizierten verlängerten Marke, was im toten Kaninchenorganismus geschehen kann. Bekanntlich wird das Rückenmark verschiedener Trocknung zur Bereitung des Impfstoffes sehr sorgfältig in sterilisierten Gefäßen in physiologischer Kochsalzlösung unter Beachtung aller Kautelen in steriler Kammer, wo jede Möglichkeit zu äußerer Verunreinigung ausgeschlossen ist, zerrieben. Die von mir unternommenen Nährbodenimpfungen der auf diese Weise bereiteten Emulsion aus sicher sterilem Rückenmarke gaben negative Resultate. Nur sehr selten konnte man ein unbedeutendes Auswachsen von saprophytischen Bakterien, die keine schädliche Wirkung auf die Behandelten ausüben, bemerken. Auf Grund von Kühnes Beobachtungen, daß das trockene Rückenmark in 70 Proz. durch Nebenbakterien verunreinigt wird, könnte man eine große Zahl von Infiltraten und Abszeßbildungen an der Impfstelle erwarten. Derartige Erscheinungen sind aber sehr selten zu beobachten; sie sind eher durch äußere Verunreinigung bei Bereitung der Emulsion ohne sorgfältige Vorsichtsmaßregeln oder bei den Impfungen selbst (beim Menschen und Kaninchen) zu erklären. Kühne gibt an, daß, seitdem die zur Injektion gebräuchlichen Kanülen vor den Injektionen sterilisiert wurden, die Zahl der Abszesse bedeutend geringer war. Wenn aber das Impfmaterial auf diese oder jene Weise infiziert wird, so kann auch die Kanülensterilisation die Abszeßbildung nicht verhüten. Alle Maßregeln, die dazu dienen, ein steriles Impfmaterial zu bekommen, sind eng miteinander verbunden. Selbstver-

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ständlich kann trotz Beachtung aller nötigen Maßregeln ausnahmsweise eine Verunreinigung des Rückenmarkes mit pathogenen Mikroorganismen, wie Staphylo- und sogar Streptokokken, zustande kommen, was zu Abszeßbildungen führen kann.

Auf Grund meiner Beobachtungen komme ich zu folgenden Schlüssen:

1) Die rechtzeitige Herausnahme des Rückenmarkes von in Agonie getöteten Kaninchen gibt einen unbedeutenden Prozentsatz von bakteriellen Verunreinigungen (nach meinen Beobachtungen in 8 Proz. der Fälle gegenüber 83,3 Proz. bei Kühne und 20 Proz. bei Lubinski).

2) Bei der Herausnahme des Rückenmarkes von an Wut verendeten Kaninchen ist die Möglichkeit der Verunreinigung um so größer, je mehr Zeit zwischen dem Tode und der Autopsie verflossen ist.

3) Das verlängerte Mark, das als Passage dient, gibt einen größeren Prozentsatz (30—40 Proz.) von bakteriellen Verunreinigungen, die ihre Ursache in äußeren Bedingungen bei der Entnahme haben. In einigen Fällen findet ein Uebergang der Bakterien aus dem verlängerten auf das Rückenmark im Kaninchenorganismus per continuitatem statt.

4) Die Verunreinigung des Rückenmarkes ist hauptsächlich äußerer Natur und hängt von der ungenügenden Beachtung aseptischer Kautelen bei der Entnahme und Verarbeitung ab. Das Eindringen von Bakterien aus dem Darmkanal ist möglich, aber wenig wahrscheinlich; zur Klärung dieser Frage müssen noch weitere Untersuchungen angestellt werden.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Mundoscillarien des Menschen.

[Aus dem Hygien. Institut der Univers. Köln (Prof. Dr. Reiner Müller).]

Von Dr. med. dent. **Berta Fellinger.**

Die bisherigen Mitteilungen über die zuerst 1906 von Reiner Müller gesehenen und 1911 von ihm als „Scheibenbakterien" veröffentlichten Mundoscillarien sind von Helmuth Simons 1922 zusammengestellt worden, der auch Abbildungen bringt. Günther Schmid benannte 1922 die von mir nachstehend näher untersuchte, nichtgrüne Spaltalge: Simonsiella Mülleri.

Meine im Sommer 1923 angestellten Untersuchungen betreffen besonders die Häufigkeit und die Orte ihres Vorkommens; die Frage, warum sie bei der Mehrzahl der Menschen dauernd vorkommen, bei anderen aber ebenso regelmäßig fehlen; ihre Vermehrungsart, Beweglichkeit und Färbbarkeit.

Häufigkeit. Nach den Angaben von Reiner Müller wurde bei allen Personen der Morgenspeichel, sogleich nach dem Erwachen in keimfreien Gläschen gesammelt, möglichst frisch untersucht. Tagsüber ist der Keimgehalt des Mundes allzu sehr den Zufälligkeiten der Nahrung, der Getränke oder des Rauchens ausgesetzt. Untersucht wurden 33 Er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wachsene, 18 = 54 Proz. hatten Oscillarien. Ferner einmal 24 Mädchen der Oberklasse einer Volksschule (13—14 Jahre alt); 17 = 71 Proz. hatten sie.

Die Erwachsenen wurden alle mehrmals, einige davon sogar dutzendemal untersucht. Dabei ergab sich, daß einmal festgestelltes Fehlen oder Vorhandensein von Mundoscillarien sich fast ausnahmslos wiederholte; ja, daß in den gefärbten Speichelausstrichen sogar die Anzahl der Oscillarien bei den einzelnen Personen eine gewisse Regelmäßigkeit zeigte. Demnach sind wohl gewisse Menschen dauernd Oscillarienträger — mehr als die Hälfte der von mir Untersuchten —, andere dauernd oscillarienfrei.

Sitz. Keine Oscillarien fand ich im Lungenauswurf von 10 Tuberkulosekranken. Sodann untersuchte ich 50 Zähne oder Wurzeln mit Karies, Pulpitis und Periodontitis; teils entnahm ich im Munde der Patienten mit dem Exkavator von dem Inhalte kranker Zähne, teils untersuchte ich ausgezogene, vor Austrocknung geschützte Zähne, wobei ebenfalls der Exkavator zur Entnahme diente. Bei allen 50 Zähnen fand ich keine Oscillarien, selbst dann nicht, wenn im Speichel derselben Person viele Oscillarien vorhanden waren.

In einer ausheilenden Zahnextraktionswunde hat Reiner Müller einmal viele Oscillarien gefunden. Ich habe nur eine solche Zahnalveole untersuchen können; diese war oscillarienfrei, aber auch der Speichel dieser Person.

Bei 6 Oscillarienträgern aus 5 Familien, also mit verschiedener Ernährung, untersuchte ich Abstriche des Belages von Zunge, Wange, Gaumen, Zähnen und Zahnzwischenräumen. Auf Zunge, Wange, vor allem aber auf dem Gaumen fanden sich die Oscillarien am häufigsten; in Gaumenpräparaten manchmal in kolonienartigen Haufen freiliegend, während sie sonst gern auf Epithelzellen liegen. Ich möchte deshalb annehmen, daß die Oscillarien sich hauptsächlich am Gaumen vermehren, vielleicht wegen des guten Luftzutritts, und von dort in die übrige Mundhöhle gelangen.

Lebensbedingungen. Die Ernährung oder sonstige Lebensweise der untersuchten erwachsenen Personen ergibt keine Anhaltspunkte. Dies zeigt die Uebersicht von 8 Familien mit 29 Personen:

1) Vater (Nichtraucher) und 1 Tochter +, Mutter und 2 Töchter frei. 2) Eine Tochter +, Mutter und 2 Töchter frei. 3) Vater (starker Raucher) +, Mutter und 2 Töchter frei. 4) Vater, Sohn (beide starke Raucher) und Tochter +. 5) Vater (Nichtraucher) +, Mutter frei. 6) Vater (Raucher), Sohn und 1 Tochter +, 1 Tochter frei. 7) 2 Töchter +, 1 Tochter frei. 8) Vater, Sohn (beide Raucher) und Tochter +, Mutter frei.

Es ergab sich, daß Ernährung, Geschlecht, Alter, Rauchen, Mundpflege oder Zustand des Gebisses die Oscillarien anscheinend nicht beeinflussen.

Bei einigen Oscillarienträgern fand ich besonders viele Oscillarien zu einer Zeit, wo sie angaben, wegen Schnupfens mit offenem Munde geschlafen zu haben; aber oscillarienfreie Personen hatten trotz solchen Schlafens mit offenem Munde keine Oscillarien; also auch dieser Luftzutritt ist allein nicht bestimmend.

Die Reaktion des Morgenspeichels prüfte ich teils durch Titrieren mit Natronlauge, Phenolphtalein als Indikator, teils durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration mit dem Komparator von L. Michaelis.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erste Versuchsreihe: 2 Personen ohne Oscillarien: ph = 6,9 und 7,0; 4 Personen mit Oscillarien: 3 ph = 7,4, eine 7,6. Die oscillarienfreien Speichelproben waren also schwach sauer, die oscillarienhaltigen alkalisch.

Zweite Versuchsreihe: 10 Speichelproben, davon 5 oscillarienhaltige. Je 0,2 ccm Speichel + 3 Tropfen Phenolphthalein. Von Zehntel-Normalnatronlauge erzeugten die Rotfärbung bei den oscillarienfreien Proben erst 5 oder 6 Tropfen; bei den oscillarienhaltigen genügte 1 Tropfen.

Dritte Versuchsreihe: 24 Schulkinder, davon 17 Oscillarienträger. Je 4 ccm Morgenspeichel mit 1 Tropfen Phenolphtalein. Bei den 17 Oscillarienhaltigen genügten 1—2 Tropfen Zehntel-Lauge zur Rotfärbung, bei den 7 anderen waren 6 Tropfen erforderlich. Im Komparator ergab sich für die 17 oscillarienhaltigen ph = 7,2 bis 7,4, bei den 7 anderen 6,9 bis 7,0.

Nach diesen übereinstimmenden Ergebnissen gedeihen die Mundoscillarien in saurem Speichel also wohl nicht. Dementsprechend fand ich auch den Inhalt von kariösen Zähnen, der selbst bei Oscillarienträgern stets frei von Oscillarien war, schwach sauer oder neutral, aber nicht alkalisch. Außerdem wird im Inhalt hohler Zähne wohl auch der Sauerstoffmangel das Gedeihen von Oscillarien verhindern.

Inwieweit die alkalische Reaktion auch für die Blinddarmoscillarien des Meerschweinchens (Oscillospira Guiellermondi) wichtig ist, sei eingehenderen Untersuchungen überlassen; ein von mir geprüfter Blinddarminhalt reagierte ausgesprochen sauer, aber ich fand auch keine derartigen Oscillarien darin.

Vermehrungsweise. Ich stellte Oscillarien im hängenden Speicheltropfen bei starker Vergrößerung ein und beobachtete stundenlang unter Benutzung eines Mikroskop-Brütschrankes bei 30°—35°. — Meistens sah ich nach ungefähr 1 Std. die erste Teilung. Hierbei teilte sich die Oscillarie entweder genau in der Mitte, oder aber es trennte sich nur etwa ein Drittel oder Viertel an einem Ende ab. Die abgetrennten Teile wuchsen wieder heran und teilten sich wiederum. Bei der Trennung kam es gelegentlich zu einer Winkelstellung der Teilstücke. — Meine Versuche, Kulturen der Mundoscillarien zu erhalten, waren erfolglos; ich versuchte Blutagar, Loeffler-Serum, Endo-Agar, peptonfreien Sputumagar, Nährbouillon mit Eiweißstückchen; ferner Nährsalzlösungen bei Tageslicht und Zimmerwärme.

Beweglichkeit. Bei der Beobachtung im hängenden Speicheltröpfchen bei 30°—35°, wobei zur Vermeidung von Flüssigkeitsströmungen besonders sorgfältig auf völlige Abdichtung des Objektträger-Hohlschliffes geachtet wurde, sah ich fast immer Ortsveränderungen der Oscillarien. Ich habe diese auch in Zeichnungen festgelegt, muß aber wegen der bekannten Druckschwierigkeiten auf Veröffentlichung verzichten. Um Täuschungen zu entgehen, wählte ich zu diesen Beobachtungen solche Oscillarien, deren Lage dadurch markiert war, daß sie auf 1 oder zwischen 2 Epithelzellen lagen. Auf Epithelzellen liegende Oscillarien glitten meist allmählich herunter und gelangten auch wohl zu Nachbarzellen. So ergab sich fast alle ½ Std. ein ganz verändertes Lagebild, wozu dann noch die schon erwähnten Teilungsvorgänge kamen. Ebensowenig wie Reiner Müller ist mir eine Darstellung von Bewegungsorganen gelungen, auch nicht bei Dunkelfeldbeleuchtung oder in Tusche- oder Opalblau-Ausstrichen. Auch die freilebenden grünen Oscillarien zeigen ja keine Geißeln, haben aber trotzdem eine pendelnde Bewegung, von der sie ja ihren Namen haben. Der segmentierte Bau der Oscillarien, der ja in dieser Hinsicht etwas an quergestreifte Muskelfasern erinnert, wird vielleicht durch einseitige Kontraktionen eine ganz langsame gleitende Ortsveränderung, wie ich sie beobachtet habe, ermöglichen.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Färbung, insbesondere der **Körnchen.** Zum einfachsten Nachweis der Oscillarien hat sich auch mir Loefflers Methylenblau-Färbung (1 Min.) des flammefixierten Ausstriches bewährt; die Gliederung und die Körnchen treten gut hervor. Die Oscillarien sind gramnegativ, jedoch enfärben sich die Grenzlinien der Segmente langsamer, so daß sie als bläuliche Striche sich abheben können. Sie sind nicht säurefest (Tb-Färbung). Jod (Lugolsche Lösung $3^1/_2$ Std.) färbt sie dunkelgelb bis braun auf hellgelbem Grund. Diese Dunkelfärbung könnte, wie bei freilebenden Oscillarien, auf Glykogengehalt zurückgeführt werden; da aber bei der Bestschen Karminfärbung die Oscillarien gar kein Kalium-Karmin annahmen, bleibt dies fraglich, da sich Glykogen mit Kalium-Karmin rot färbt. Sudan färbt nicht; also enthalten sie wohl kein Fett. Bei den Färbungen nach Giemsa, Manson und Pappenheim werden die Oscillarien blau, zeigen besonders deutlich nach Giemsa die Gliederung, aber keine Körnchen.

Als schönste Färbungen, bei denen sowohl die Gliederung wie auch die Körnchen aufs schönste hervortreten, fand ich Methylgrün-Pyronin (24 Std.) mit dunkelroten Körnchen in hellem Rot, Hämatoxylin-Eosin mit dunkelblauen Körnern in rotem Grund; und die Neißersche Körnchenfärbung. Bei der von mir benutzten Modifikation dieser Körnchenfärbung (5 Min. Borax-Methylenblau, 10 Sek. Chrysoidin) treten die dunkeln Körnchen besonders scharf in grünlich-gelbem Grund hervor; auch treten die Oscillarien besonders deutlich in der schwach gefärbten Umgebung hervor. — Zur besseren Feststellung der Natur dieser Körner, deren Zahl und Größe in Segmenten wechselt, benutzte ich die Schumachersche Phosphinfärbung, bei der sich Nukleine und Nukleoproteide gelb färben, freie Nukleinsäure aber grün. Da sich hierbei in den gelblichen Oscillarien dunkle, grüne Körnchen zeigten, dürfte freie nukleinsäure in Simonsiella Mülleri vorhanden sein.

Literatur: zitiert bei H. Simons, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 501.

Nachdruck verboten.

Ueber die Immunisierung gegen Rauschbrand mit Kulturfiltraten.

[Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

Von **Seiichi Nishiura.**

Zur Schutzimpfung von Rindern gegen den Rauschbrand stehen schon seit langer Zeit verschiedene Verfahren zur Verfügung.

Seitdem zuerst Arloing, Cornevin und Thomas für diesen Zweck die intravenöse und intratracheale Injektion virulenter Rauschbrandbakterien angewendet haben, ist man weiter um eine praktische Ausgestaltung des Prinzips bemüht gewesen, und wenn auch die Impfstoffe immer wieder nach dieser oder jener Richtung modifiziert worden sind, so liefen doch die gebräuchlichen Impfmethoden bei Rauschbrand darauf hinaus, daß der lebende Erreger in irgendeiner Form den Tieren einverleibt wird. Die Resultate waren nicht ganz befriedigend. Es zeigte sich immer wieder, daß bei Verwendung virulenten Materials die Dosierung nicht mit der wünschenswerten Genauigkeit vorgenommen werden kann, daß Impfverluste sich nicht sicher vermeiden lassen, und daß auch der erstrebte Schutz öfters ausbleibt. Durch abgeschwächte

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Rauschbrandimpfstoffe lassen sich zwar Impfverluste einigermaßen vermeiden, dafür ist aber auch der Impfschutz weniger stark.

Es bedeutete daher einen großen Fortschritt, als es gelang, den Nachweis zu führen, daß man auch unter Ausschaltung des lebenden Erregers, nämlich durch Verwendung keimfreier Filtrate von Rauschbrandkulturen, Tieren einen wirksamen und dauerhaften Impfschutz zu verleihen vermag. Schon vor längerer Zeit hatte man nach dieser Richtung hin Versuche angestellt, die aber zu keinen günstigen Ergebnissen geführt hatten. Die Immunisierung mit Toxinen des Rauschbrandbazillus, wie sie von Graßberger und Schattenfroh versucht worden ist, hatte sich nicht bewährt. Erst neuerdings sind Naoshi Nitta, sowie Gräub und Zschokke dazu gelangt, die ungiftigen Filtrate von Rauschbrandkulturen zu Schutzimpfungen zu verwenden. Derartige Filtrate werden sowohl von Laboratoriumstieren, Meerschweinchen und Mäusen, als auch von Rindern und Schafen selbst in größeren Mengen glatt vertragen und rufen höchstens unbedeutende Lokalinfiltrationen hervor. In der Praxis hat sich nach den bisher vorliegenden Erfahrungen das Verfahren der ungiftigen keimfreien Rauschbrandfiltrate gleichfalls zur Schutzimpfung von Rindern bewährt; Impfverluste sind ausgeschlossen, die Immunität erweist sich als zuverlässig und scheint $^1/_2$ Jahr oder noch länger anzudauern (vgl. Naoshi Nitta, Gräub und Zschokke, Eichhorn, Gerlach u. a.).

Von Interesse ist es nun, daß über das Prinzip dieses Verfahrens Zweifel aufgetaucht sind. In einer kritischen Besprechung der Methode erhebt Foth den Einwand, daß es sich bei den „keimfreien" Rauschbrandfiltraten in Wirklichkeit gar nicht um keimfreies Material handele, sondern nur um eine sehr keimarme Kulturflüssigkeit. Er stützt sich dabei zugleich auf eigene Experimente, durch die er den Nachweis erbracht zu haben glaubt, daß es mit Hilfe unserer gebräuchlichen Bakterienfilter überhaupt nicht mit Sicherheit gelingt, Rauschbrandbakterien (Rauschbrandsporen) aus der Bouillonkultur zurückzuhalten. Es ist ihm mehrfach gelungen, durch Verarbeitung größerer Mengen „keimfreier" Filtrate (mittels Einengung und Alkoholfällung) und Verimpfung des so gewonnenen Materials auf Meerschweinchen bei diesen Tieren Rauschbrand hervorzurufen. Foth neigt demgemäß der Ansicht zu, daß die Schutzwirkung der Rauschbrandfiltrate nicht auf irgendwelchen löslichen Stoffen oder Stoffwechselprodukten der Rauschbrandbakterien (Toxoide, Aggressine) beruhe, sondern daß es sich einfach um eine Immunisierung mit sehr geringen Mengen von Rauschbrandsporen handele. Danach wäre also auch die Rauschbrandimmunisierung mit Filtraten im Prinzip von älteren Methoden nicht unterschieden.

Von vornherein erscheinen die von Foth vorgebrachten Argumente und Experimente nicht ganz überzeugend. Denn einmal ist ihm der Nachweis von lebenden Rauschbrandbakterien (Sporen) keineswegs in allen Filtratproben gelungen, und außerdem bedurfte es auch in den positiven Fällen immer sehr beträchtlicher Filtratmengen von 30—60 ccm, während für Schutzimpfungszwecke bei Meerschweinchen und auch Rindern schon 2—3 ccm des Filtrats vollkommen genügen. Auch ist darauf hinzuweisen, daß die direkte kulturelle Prüfung der Filtrate auf Keimgehalt in den Versuchen von Gräub und Zschokke u. a. stets ein negatives Ergebnis geliefert hat. Immerhin bot es Interesse, den Beobachtungen von Foth weiter nachzugehen und zu untersuchen, inwieweit die durch Bakterienfilter geschickten Rauschbrandkulturen tatsächlich noch keimhaltig sind, und ob sich etwa weitere Anhaltspunkte dafür gewinnen lassen, daß die immunisierende Wirkung der Filtrate durch ihren Gehalt an Rauschbrandsporen bedingt sein könnte. Dieser Frage kommt ja eine über den Spezialfall der Rauschbrandimpfung hinausgehende allgemeine biologische Bedeutung zu.

Ich habe mich dieser Aufgabe auf Veranlassung von Herrn Prof. Sobernheim unterzogen. Die Experimente erstreckten sich nach mehreren Richtungen. Einmal wurden Rauschbrandfiltrate verschiedener Herkunft auf Keimfreiheit untersucht, und zwar sowohl kulturell als durch Verimpfung in konzentrierter Form, nach dem Vorgehen Foths, auf Meerschweinchen. Sodann wurde die immunisierende Wirkung einiger Filtrate geprüft und endlich in einer 3. Reihe von Versuchen ermittelt, welche geringsten Mengen lebender Rauschbrandbakterien überhaupt imstande und ausreichend sind, um Meerschweinchen gegen eine folgende Infektion mit virulenter Rauschbrandkultur sicher zu schützen.

Rauschbrandfiltrate sind mir in einer Reihe von Proben durch Herrn Privatdozenten Dr. Gräub zur Verfügung gestellt worden. Ich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

möchte auch an dieser Stelle Gelegenheit nehmen, ihm hierfür meinen Dank auszusprechen. Die Filtrate waren teils ganz frisch bereitet und ohne jeden Zusatz, teils handelte es sich um ältere karbolisierte Filtrate. Alle Filtrate waren von dem Stamm „P" gewonnen. Die Kulturen, die ich selbst verwendete, sowohl zur Infektion der Tiere, als auch zur Herstellung der stark verdünnten Impfstoffe, sind ebenfalls von dem Stamm P angelegt worden. Somit bestand die Möglichkeit, alle Versuche mit dem homologen Stamm durchzuführen und damit namentlich bei den Immunisierungsversuchen alle Zufälligkeiten auszuschalten, die sich etwa durch biologische Besonderheiten verschiedener Kulturen hätten ergeben können. Der Stamm P, der auch zu früheren Experimenten im hiesigen Institut gedient hatte (vgl. Gräub und Zschokke, Uchimura), stellt einen Vertreter des typischen Rauschbrandbazillus dar. Er zeigt alle charakteristischen morphologischen und kulturellen Eigenschaften, wie sie dem echten Rauschbrandbazillus zukommen (vgl. auch hierüber Uchimura, sowie Sobernheim).

I. Prüfung der Filtrate auf Keimfreiheit.

Es war ohne weiteres klar, daß, wenn die durch Bakterienfilter, und zwar Berkefeld- und Chamberland-Filter, geschickten Rauschbrandkulturen wirklich noch Keime enthalten sollten, überhaupt nur mit einer ganz geringen Keimzahl gerechnet werden konnte. Hierfür sprach schon die Tatsache, daß die Verimpfung von 2—3 ccm der Filtrate auf Meerschweinchen nach früheren Versuchen so gut wie reaktionslos vertragen wurde, und daß selbst größere Mengen von 10 und 20 ccm höchstens vorübergehend lokale Infiltration, niemals aber den Tod der Tiere hervorgerufen hatten. Auch waren wiederholt Filtratmengen von 2, 5, 10 ccm, ja von 40—50 ccm durch Aussaat in Leberbouillon auf Keimfreiheit geprüft worden, mit dem Resultat, daß keine lebenden Keime darin nachgewiesen werden konnten. Speziell die mir von Herrn Dr. Gräub überlassenen frischen Rauschbrandfiltrate wurden zunächst mittels Kulturverfahrens auf Keimfreiheit untersucht und in jedem Falle als keimfrei befunden. Es kann natürlich sehr wohl einmal vorkommen, daß bei Benutzung eines nicht einwandfreien Filters vereinzelte Rauschbrandsporen in das Filtrat übergehen, aber solche Filtrate wurden dann entweder nochmals filtriert oder überhaupt ausgeschaltet. Jedenfalls darf aus den bisherigen, im hiesigen Institut gemachten Erfahrungen geschlossen werden, daß es in der Regel gelingt, Filtrate zu gewinnen, in denen mit Hilfe des Kulturverfahrens (Verimpfung auf Leberbouillon) auch in größeren Mengen lebende Rauschbrandkeime nicht nachgewiesen werden können.

Ich habe daher von einer weiteren Anwendung dieser Prüfungsmethode abgesehen und mich darauf beschränkt, nach dem Vorgehen von Foth größere Filtratmengen einzuengen und alsdann auf Meerschweinchen zu verimpfen.

Das Verfahren wurde so gehandhabt, daß das frische, nicht karbolisierte Filtrat zunächst bei 40° auf dem Wasserbade auf den 10. Teil eingeengt wurde. Dann erfolgte der Zusatz der 25fachen Menge von absolutem Alkohol, der Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet, das erhaltene Pulver schließlich mit sterilem Aq. dest. aufgenommen, die Gesamtmenge in 2 gleiche Teile geteilt und auf 2 Meerschweinchen subkutan verimpft. In dem ersten Versuch wurden 50 ccm Filtrat verarbeitet, in einem zweiten 100 ccm Filtrat.

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Die beiden Meerschweinchen, die mit dem Präzipitat des ersten Filtrates geimpft worden waren, von denen jedes also eine dem Quantum von 25 ccm entsprechende Dosis erhalten hatte, blieben am Leben. Beide Tiere waren nach der Impfung andauernd munter und zeigten nur eine lokale Infiltration, die bei dem einen ganz gering, bei dem anderen etwas stärker war und in beiden Fällen nach einigen Tagen wieder zurückging und nur an der Injektionsstelle eine kleine demarkierende Nekrose zur Entwicklung gelangen ließ. Von den beiden anderen Tieren, die je 50 ccm Filtrat in konzentrierter Form injiziert bekommen hatten, kam eines ebenfalls mit dem Leben davon, und zeigte nur Lokalerscheinungen, in Form von stärkerer Infiltration und Druckempfindlichkeit in der Umgebung der Injektionsstelle, blieb aber dabei vollkommen munter. Das 2. Tier ging nach 2 Tagen unter Rauschbranderscheinungen zugrunde. Es fand sich bei der Sektion eine ödematöse Infiltration ohne Gasbildung, die mikroskopische Untersuchung ließ schon im Klatschpräparat von der Leber Rauschbrandbazillen erkennen.

Was lehren uns diese Versuche? Zunächst hat sich ergeben, daß von dem Filtrat I, das sich bei direkter kultureller Prüfung als keimfrei erwiesen hatte, auch größere Mengen von 25 ccm bei Meerschweinchen keinerlei Krankheitserscheinungen hervorriefen. Die Verimpfung des nach der Methode Foth konzentrierten Präparates bewirkte nur eine unbedeutende lokale Infiltration. Man kann somit wohl sagen, daß dieses Filtrat keimfrei gewesen ist und zum mindesten in den Dosen, die bei den später zu berichtenden Immunisierungsversuchen zur Anwendung gelangten, keine Rauschbrandkeime enthalten hat. Anders steht es mit dem zweiten Filtrat. Auch dieses hatte sich kulturell als keimfrei erwiesen. Dagegen war eines der beiden mit 50 ccm geimpften Meerschweinchen an Rauschbrand zugrunde gegangen. Die Zahl der Rauschbrandkeime, die selbst in diesem außerordentlichen Quantum enthalten gewesen ist, kann aber nur eine äußerst geringe gewesen sein. Einmal war das 2., mit der gleichen Dosis geimpfte Meerschweinchen ohne nennenswerte Krankheitserscheinungen mit dem Leben davongekommen, und dann war ja eben nach Uebertragung kleinerer Filtratmengen (5 ccm) in sterile Leberbouillon kein Wachstum erfolgt. Inwieweit dieser Befund für die Frage nach dem Wesen der Schutzwirkung der Filtrate zu verwerten ist, bleibe zunächst unerörtert. Etwas anderes sei indessen schon hier betont. Wie wir sehen werden, ist das Kulturverfahren entschieden das feinere Reagens zum Nachweis lebender Rauschbrandkeime. Das ergibt sich eigentlich schon daraus, daß man auch bei Verwendung virulenter Rauschbrandstämme immer einer nicht zu geringen Dosis von mindestens 0,1—0,2 ccm bedarf, selten weniger, um Meerschweinchen auf subkutanem Wege tödlich zu infizieren. Wenn nun in dem vorliegenden Falle gerade das Umgekehrte eintrat und, bei negativem Ausfall der kulturellen Prüfung, das Tierexperiment die in dem Filtrat vorhandenen, sicherlich äußerst spärlichen Rauschbrandkeime aufdeckte, indem diese den Tod des betreffenden Meerschweinchens herbeiführten, so ist hier offenbar noch etwas Besonderes mit im Spiele. Es ist kaum zu bezweifeln, daß in dem durch Alkoholfällung aus dem Filtrate gewonnenen Niederschlag nicht nur Rauschbrandsporen als einzig wirksamer Faktor enthalten sind, sondern zugleich auch Stoffe, die die Wirksamkeit (Virulenz) dieser Sporen steigern. Mit anderen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Worten, die löslichen und gelösten Stoffwechselprodukte, die in den Filtraten enthalten sind und ebenfalls in den Alkoholniederschlag übergehen, könnten nach Art der Aggressine das Zustandekommen der tödlichen Infektion begünstigen. Das wäre für die uns beschäftigende Frage nach der Keimfreiheit der Rauschbrandfiltrate zwar ohne Belang, würde uns aber das eigentümliche Resultat der Tierimpfung erklären und zugleich geeignet sein, die Deutung der Immunisierungsversuche zu beeinflussen.

II. Infektion mit stark verdünnten Rauschbrandkulturen.

In den weiteren Experimenten, die ich anstellte, hatte ich es mir zur Aufgabe gemacht, zu ermitteln, inwieweit mit stark verdünnten, sehr keimarmen Rauschbrandkulturen eine Infektion von Meerschweinchen möglich, der Tierversuch also zum Nachweis einzelner Keime geeignet ist.

Zu diesem Zwecke benutzte ich Rauschbrandkulturen in Leberbouillon, die 48 Std. bei 37° gezüchtet worden waren. Die Kulturen wurden zunächst mikroskopisch auf Reinheit geprüft und alsdann in verschiedenen Graden verdünnt. Als Verdünnungsflüssigkeit benutzte ich sterile Leberbouillon, die zuvor durch steriles Papierfilter von allen gröberen suspendierten Bestandteilen befreit worden war. Die Wahl der Leberbouillon gründete sich darauf, daß ich im Hinblick auf die folgenden Immunitätsprüfungen die Verhältnisse nachahmen wollte, wie sie sich bei der Verwendung von Rauschbrandfiltraten darstellen.

Die Verdünnungen wurden alsdann auf Keimgehalt geprüft, wobei ich auf eine exakte Feststellung der Keimzahl verzichtete. Es kam mir nur darauf an, zu sehen, inwieweit die Verdünnung überhaupt noch Rauschbrandkeime enthielt. Es wurde daher von jeder Verdünnung immer eine Menge von 1 und 2 ccm in ein Röhrchen mit Leberbouillon übertragen.

Hand in Hand mit dem Reagenzglasversuch ging der Tierversuch. Die Verdünnungen wurden hierbei in Mengen von 3—5 ccm auf Meerschweinchen subkutan verimpft, und zwar so, daß immer je 2—3 Tiere für die einzelnen Verdünnungen benutzt wurden.

In einer 1. Serie wurden Verdünnungen 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10 000 hergestellt. Sie enthielten sämtlich nach Ausweis des Kulturverfahrens noch Rauschbrandkeime; die mit den Proben beimpften Kulturröhrchen zeigten nach 24 Std. gutes Wachstum. Die Tierimpfungen ergaben nur bei Verwendung der Verdünnung 1 : 100 ein durchweg positives Resultat, indem alle 3 mit je 5 ccm geimpften Meerschweinchen nach 2 Tagen an tödlichem Rauschbrand eingingen. Von den mit 1 : 1000 Kultur, ebenfalls in der Dosis von 5 ccm, geimpften 3 Tieren starb nur eines nach 3 Tagen und zeigte bei der Sektion typischen Rauschbrandbefund. Die beiden anderen Tiere der gleichen Gruppe blieben dagegen am Leben, waren dauernd munter und reagierten gar nicht bzw. nur ganz leicht mit lokaler Infiltration. Das gleiche gilt von den 3 Meerschweinchen, die 5 ccm von der Verdünnung 1 : 10 000 erhalten hatten; auch sie überstanden die Impfung ohne Lokal- oder Allgemeinerscheinungen.

Diese Ergebnisse lehren, was bereits früher angedeutet worden ist, daß das Kulturverfahren dem Tierversuch entschieden überlegen ist, wenn es sich um den Nachweis von Rauschbrandkeimen handelt.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fast ganz in dem gleichen Sinne fiel ein 2. Versuch aus, bei dem noch stärkere Verdünnungen zur Anwendung gelangten. Die 2-täg. Rauschbrandkultur wurde in der oben beschriebenen Weise behandelt und auf 1:50 000 und 1:100 000 mit steriler Leberbouillon verdünnt. Auch in diesen Verdünnungen waren noch Rauschbrandkeime enthalten, offenbar aber in ziemlich geringer Zahl, denn die mit den Proben beschickten Kulturröhrchen ließen erst nach 48 Std. deutliches Wachstum erkennen. Auch hier blieben die mit der Verdünnung 1:50 000 subkutan infizierten 3 Meerschweinchen, die je 3 ccm erhalten hatten, gesund und am Leben; nur 2 von ihnen zeigten vorübergehend eine leichte Infiltration in der Umgebung der Impfstelle. Eigentümlicherweise ging von der anderen Serie, die mit je 3 ccm der Verdünnung 1:100 000 geimpft worden war, eines der Tiere nach 3 Tagen zugrunde, und zwar an sicher konstatiertem Rauschbrand. Die beiden anderen Meerschweinchen dieser Serie blieben am Leben. Derartige Unregelmäßigkeiten im Tierexperiment kommen bei experimenteller Rauschbrandinfektion immer wieder einmal vor. Ich glaube daher nicht, daß irgendein Versuchsfehler vorliegt, sondern bin überzeugt, daß nur die erhöhte individuelle Empfänglichkeit des betreffenden Tieres den tödlichen Verlauf der Infektion veranlaßt hat. Aber wie dem auch sei, es zeigt sich wiederum, daß das Kulturverfahren die besseren Resultate liefert, und daß trotz des erwiesenen Gehaltes an Rauschbrandbakterien die Verimpfung von 3 ccm verdünnter Kulturflüssigkeit nur in einem Falle Rauschbrand hervorrief.

III. Immunisierung mit Rauschbrandfiltraten und verdünnter Rauschbrandkultur.

Von besonderem Interesse war nun die Frage, inwieweit die Vorbehandlung einerseits mit Rauschbrandfiltraten, andererseits mit stark verdünnten Rauschbrandkulturen einen Impfschutz gegen die Infektion mit virulenter Rauschbrandkultur zu verleihen vermag. Es wurden für diese Versuche die aus den früheren Reihen überlebenden Tiere verwendet. Zur Kontrolle dienten Meerschweinchen, die teils ohne jede Vorbehandlung geblieben waren, teils sterile Leberbouillon subkutan erhalten hatten. Es sollte durch die letztere Gruppe von Tieren konstatiert werden, daß nicht etwa schon diese Flüssigkeit unter den gegebenen Versuchsbedingungen resistenzsteigernde Wirkung äußert.

Die Immunitätsprüfung wurde in 3 Reihen ausgeführt, die in der Tabelle (S. 407) übersichtlich zusammengestellt sind. Die 1. Reihe umfaßt die mit je 5 ccm der Kulturverdünnungen 1:1000 und 1:10 000 subkutan geimpften Meerschweinchen. Wie erinnerlich, blieben die mit 1:10 000 Kultur infizierten 3 Tiere sämtlich am Leben, von den mit 1:1000 gespritzten 2 Tiere ebenfalls, während das 3. an Rauschbrand zugrunde ging. Diese 5 Tiere wurden 14 Tage später mit virulenter Rauschbrandkultur infiziert. Die 48-stünd. Leberbouillonkultur wurde durch steriles Papierfilter geschickt, von gröberen Partikelchen befreit und dann mit NaCl-Lösung auf $^1/_{100}$ verdünnt; hiervon erhielten die Tiere je 5 ccm subkutan injiziert. Die Infektionsdosis betrug also, auf die unverdünnte Kultur berechnet, pro Tier 0,05 ccm. Wir wählten absichtlich zunächst diese geringe Menge und injizierten sie nach Verdünnung in dem großen Flüssigkeitsquantum von 5 ccm, weil uns gewisse Beobachtungen zu der Ueberzeugung geführt hatten, daß bei größerem Flüssigkeitsquantum die Infektion sicherer gelingt. Gleichzeitig

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Immunisierungsversuch mit Rauschbrandfiltraten und verdünnter Rauschbrandkultur (Meerschweinchen).

Nr.	Gew.	Vorbehandlung	Infektion: Zeitpunkt nach der Vorbehandlung	Infektion: Dosis	Ergebnis
1	380	5 ccm 48-stündige Rauschbrandkultur, 1 : 1000 verdünnt	14 Tage später	5 ccm 1:100 verdünnter Rauschbrandkultur subkutan	lebt
2	300		14 „ „		„
3	220	5 ccm der gleichen Kultur, Verdünnudg 1 : 10 000			„
4	350		14 „ „	dgl.	„
5	360		14 „ „	„	„
6	400	5 ccm keimfreies Rauschbrandfiltrat (frisch)	14 „ „	„	„
7	320		14 „ „	„	„
8	420	—	—	„	† 3 Tage
9	330	—	—	„	† 3 Tage
10	470	3 ccm 48-stünd. Kultur, 1 : 50 000 verdünnt	18 Tage später	0,5 ccm unverdünnter Rauschbrandkultur subkutan	lebt
11	290		18 „ „		„
12	330		18 „ „		„
13	310	3 ccm der gleichen Kultur, 1 : 100 000 verdünnt	18 „ „	dgl.	„
14	350		18 „ „	„	„
15	320	3 ccm keimfreies Rauschbrandfiltrat, karbolisiert	18 „ „	„	„
16	500		18 „ „	„	„
17	390		18 „ „	„	„
18	300	3 ccm sterile Leberbouillon	—	„	† 4 Tage
19	340		—	„	† 4 „
20	300	—	—	„	† 4 „
21	210	—	—	„	† 4 „
22	380	25 ccm keimfreies Rauschbrandfiltrat, durch Alkoholfällung etc. auf 2,5 ccm eingeengt	44 Tage später	0,7 ccm unverdünnter Rauschbrandkultur (48 Std.)	lebt
23	330		44 „ „		„
24	250	50 ccm Filtrat, eingeengt auf 2,5 ccm	24 „ „	dgl.	„
25	300	—	—	„	† 2 Tage (Rauschbrd.)

mit diesen 5 Meerschweinchen wurden 2 andere Tiere in der nämlichen Weise infiziert, die ebenfalls 14 Tage vorher 5 ccm frisches, karbolfreies Rauschbrandfiltrat erhalten hatten. Dieses Filtrat hatte sich kulturell als keimfrei erwiesen und war von den beiden Meerschweinchen gut vertragen worden, ohne Störung des Allgemeinbefindens und mit nur unbedeutender lokaler Infiltration. Zu diesen vorbehandelten Tieren kamen endlich noch 2 neue Meerschweinchen als Kontrolle hinzu.

Das Ergebnis war eindeutig: Die beiden Kontrollen waren nach 3 Tagen tot und boten bei der Sektion das typische Rauschbrandbild, während *alle vorbehandelten Meerschweinchen die Infektion ziemlich glatt überstanden*. Somit hat die Einverleibung geringer Bakterienmengen den Tieren einen sicheren Impfschutz zu verleihen vermocht, denn durch das Kulturverfahren war sichergestellt, daß die Verdünnungen von 1 : 1000 und 1 : 10 000 noch Rauschbrandbakterien enthielten. Andererseits hat aber auch das Filtrat, entsprechend den Erfahrungen von *Nitta*, *Gräub* und *Zschokke*, *Uchimura* u. a., in gleicher Weise immunisierend gewirkt, *ohne daß in diesem Fil-*

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

trat bei der gewöhnlichen Art der Prüfung Rauschbrandkeime nachgewiesen werden konnten.

Eine 2. Versuchsreihe unterschied sich von der 1. in Einzelheiten der Anordnung, lief aber im Prinzip auf das gleiche hinaus. Die Vorbehandlung der Meerschweinchen war hier mit noch geringeren Kulturmengen erfolgt. Sie hatten Kulturverdünnungen von 1:50000 und 1:100000 erhalten und hiervon nur je 3 ccm. Die Impfung mit 1:50000 Kultur war von den 3 betreffenden Tieren ziemlich glatt vertragen worden, die Verdünnung 1:100000 hatte 1 Tier getötet (Rauschbrand), die beiden anderen hatten die Infektion mit geringfügigen Lokalerscheinungen überstanden. Nach 18 Tagen wurden diese 5 Meerschweinchen subkutan infiziert, und zwar mit 0,5 ccm einer 48-stünd. virulenten Rauschbrandkultur, die vorher nur durch steriles Papierfilter geschickt worden war. Daneben wurden 3 Meerschweinchen, die 3 ccm älteres, karbolisiertes Rauschbrandfiltrat 18 Tage vorher erhalten hatten, in der Dosis von 3 ccm in gleicher Weise infiziert. Von 4 Kontrolltieren waren 2 völlig unbehandelt, 2 andere waren 18 Tage vorher mit je 3 ccm steriler Leberbouillon subkutan geimpft worden.

Die Kontrolltiere gingen nach 3—4 Tagen an typischem Rauschbrand zugrunde. Alle übrigen Meerschweinchen (8) kamen mit dem Leben davon und zeigten bei ungestörtem Allgemeinbefinden nur die bekannten geringfügigen Lokalerscheinungen, in Form von Infiltration in der Umgebung der Impfstelle, sowie vereinzelt leichte Druckempfindlichkeit in den ersten Tagen nach der Impfung. Wiederum schützt also sowohl das Filtrat als auch die stark verdünnte Rauschbrandkultur. Wenn auch von den Kulturverdünnungen eine größere Dosis, 3 ccm, verimpft wurde, so ist doch offenbar schon eine recht geringe Keimzahl von Rauschbrandbakterien imstande, immunisierend zu wirken.

Endlich wurden auch noch in einer 3. und letzten Versuchsreihe die 3 Meerschweinchen auf Immunität geprüft, die aus den Versuchen mit den durch Alkoholfällung eingeengten Filtraten am Leben geblieben waren. Es waren dies 2 Tiere, die je 25 ccm in konzentrierter Form erhalten hatten und ohne nennenswerte Störungen am Leben geblieben waren, sowie ein Meerschweinchen, das 50 ccm eines anderen Filtrates als Alkoholpräzipitat erhalten hatte; das Paralleltier dieses letzteren war an Rauschbrand eingegangen. Diese 3 Tiere wurden zugleich mit einem neuen Kontrolltier einer scharfen Immunitätsprüfung unterworfen. Sie erhielten nach 44 bzw. 24 Tagen 0,7 ccm virulenter Rauschbrandkultur. Es wurde also der Zwischenraum zwischen Vorbehandlung und Infektion nicht unerheblich verlängert, außerdem die Kulturdosis erhöht. Trotzdem erwiesen sich auch diese 3 Tiere als vollkommen immun. Sie reagierten nur rein lokal und unbedeutend, zeigten keinerlei Allgemeinerscheinungen und kamen mit dem Leben davon. Das Kontrolltier ging nach 2 Tagen zugrunde. Hier hat also zum mindesten bei Filtrat I durch keimfreies Material sichere Immunität erzielt werden können, denn in diesem Filtrat waren weder kulturell Rauschbrandkeime nachgewiesen worden, noch hatte der alkoholische Niederschlag von 25 ccm im Tierversuch Anhaltspunkte für die Anwesenheit von Rauschbrandbakterien ergeben. Filtrat II hatte zwar in dem Quantum von 50 ccm wohl noch ganz minimale Mengen von Rauschbrandbakterien enthalten, da ein Meerschweinchen nach der Impfung mit dem entsprechenden alkoholischen Präzipitat an Rauschbrand eingegangen war, es bleibt aber die Frage offen, ob hierauf, d. h. auf diesen fast ver-

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

schwindend geringen Keimgehalt die bei dem Paralleltier nach Ueberstehen der Impfung vorhandene Immunität zurückgeführt werden kann. Damit kommen wir zur Deutung unserer Versuche und zur Besprechung der aus ihnen abzuleitenden Schlußfolgerungen.

Schlußfolgerungen.

Sicher ist, daß bei der von uns gewählten Versuchsanordnung durch recht geringe Mengen von Rauschbrandkeimen Meerschweinchen immunisiert werden können. Diese Immunität ist stark und ziemlich dauerhaft. Unsere Versuche sind zwar nicht allzu zahlreich, dennoch aber war das Resultat eindeutig. Alle unsere Meerschweinchen, die mit stärker verdünnten Rauschbrandkulturen vorbehandelt worden sind und diese Impfung überstanden, haben sich gegenüber einer späteren Infektion als immun erwiesen, auch dann, wenn zur Infektion größere Mengen einer virulenten Kultur benutzt wurden und die Prüfung auf Immunität erst nach 3—6 Wochen erfolgte. Man muß hier allerdings folgendes berücksichtigen: Es wurde in unseren Experimenten aus besonderen Gründen zur Verdünnung der Kultur sterile Leberbouillon benutzt, auch wurden größere Mengen dieser Verdünnungen, 3—5 ccm, den Tieren einverleibt. Es wäre nun denkbar, daß unter diesen Verhältnissen eine nachträgliche Vermehrung der spärlichen Rauschbrandkeime in dem subkutanen Gewebe besonders begünstigt worden ist, dadurch, daß das Flüssigkeitsquantum nur langsam resorbiert wurde und die Flüssigkeit selbst als Kulturmedium für diese Vermehrung geeignet war. Es würde daher wohl zweckmäßig sein, die Versuchsanordnung in weiteren Experimenten so zu treffen, daß als Verdünnungsflüssigkeit nicht ein Kulturmedium (Leberbouillon), sondern physiologische NaCl-Lösung gewählt wird. Leider bin ich nicht mehr in der Lage gewesen, die Versuche nach dieser Richtung hin zu ergänzen und zu vervollständigen.

Diese Feststellungen scheinen mir aber nichts zu beweisen für die Frage nach der Wirkungsweise der Rauschbrandfiltrate. Ich habe zwar gefunden, daß die durch Bakterienfilter (Berkefeld-Filter) geschickten Kulturen ganz ausnahmsweise einmal vereinzelte Rauschbrandkeime enthalten können, andererseits aber so gut wie regelmäßig die Keimfreiheit verschiedener von mir geprüfter Filtrate erweisen können. Mengen von 5 ccm und mehr ließen in geeignetem Kulturmedium (Leberbouillon) keine Entwicklung von Rauschbrandkeimen erkennen, und auch die Verimpfung konzentrierter Filtratmengen von 25 ccm auf Meerschweinchen erzeugte keinen Rauschbrand. Mit Hilfe dieser sicher keimfreien Filtrate konnten aber Meerschweinchen wirksam immunisiert werden, ganz im Sinne der Beobachtungen von Gräub und Zschokke, sowie Uchimura. Es ergibt sich hieraus unzweifelhaft, daß das immunisierende Prinzip der Rauschbrandfiltrate nicht auf einem Gehalt der Filtrate an vereinzelten entwicklungsfähigen

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Keimen beruht, sondern eigener Art ist. Die Filtrate wirken allein durch gelöste Stoffe nach Art der Toxoide oder Aggressine, worauf auch noch eine andere Beobachtung hindeutet. Es hat sich nämlich mehrfach zeigen lassen, daß das Kulturverfahren dem Tierversuch weit überlegen ist, wenn es sich um den Nachweis lebender Rauschbrandkeime handelt. Andererseits konnte mit dem nach der Methode Foth (mittels Alkoholfällung) konzentrierten Filtrat in einem Falle bei einem Meerschweinchen tödlicher Rauschbrand erzeugt werden, obwohl dieses Filtrat nach Ausweis des Kulturverfahrens nur so wenig lebende Rauschbrandkeime enthielt, wie sie bei unserem Stamme sonst niemals auch nur zu einer krankmachenden Wirkung ausreichen. Das beweist wohl, daß in dem eingeengten Filtrat neben den verschwindend geringen Rauschbrandkeimen noch infektionssteigernde Stoffe enthalten gewesen sein müssen, also Substanzen, die wir als Aggressine zu bezeichnen pflegen.

Literatur.

Arloing, Cornevin et Thomas, Le charbon symptom. du bœuf. Paris (Asselin & Honzeau) 1887. — Eichhorn, Journ. Americ. Vet. med. Associat. 1918. — Foth, Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 23. 1922. — Graßberger u. Schattenfroh, Handb. v. Kraus-Levaditi. — Gräub u. Zschokke, Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 62. 1920. — Gerlach, Dtschösterr. tierärztl. Woch. 1922. — Naoshi Nitta, Bull. Central-Vet.-med. Associat. of Japon. 1918. — Sobernheim, Berl. klin. Wochenschr. 1921. — Uchimura, Ztschr. f. Hyg. Bd. 92. 1921.

Nachdruck verboten.

Agglutinationsversuche mit dem Bacillus paratyphus abortus equi[1]).

[Aus dem Serumlaboratorium der Gesellschaft für Seuchenbekämpfung A.-G. Frankfurt a. M. — Niederrad.]

Von Dr. **Alexander Lusztig.**

Es ist wohl längst bekannt, daß die auf die Paratyphus abortus-Bazillen wirkenden Agglutinine auch im Normalpferdeserum in ganz erheblicher Menge vorhanden sind, und die demgemäß die Fähigkeit besitzen, die genannten Bakterien in einer Verdünnung von 1 : 50 bis 1 : 300 zu agglutinieren. Es wird allgemein die Agglutination zwischen 1 : 400—1 : 800 als zweifelhaft, darüber als positiv bezeichnet. Lütje beobachtete oft bei den mit Paratyphus abortus infizierten Pferden einen Agglutinationstiter bis 1 : 2000—1 : 4000, in anderen Fällen hingegen waren trotz der heftigen Infektion agglutinierende Immunkörper in nennenswerter Menge nicht nachzuweisen.

Ich habe im Serumlaboratorium der Gesellschaft für Seuchenbekämpfung in Frankfurt a. M. Versuche in der Richtung vorgenommen, ob Immunsera, zu deren Herstellung Paratyphusstämme nicht abortie-

1) Auszug aus dem Original: Állotorvosi Közlöny, Budapest, Mai 1923.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

render Herkunft benutzt wurden, eine agglutinierende Wirkung auf Abortus paratyphus-Bazillen ausüben und welche Höhe im bejahenden Falle die Titergrenze erreichen kann.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich dreierlei Immunsera, und zwar ein monovalentes Rinderserum, hyperimmunisiert mit einem Kälberparatyphusstamm (Stamm Kpt) und 2 quinquevalente Sera, das eine aus Pferd, das andere aus Rind hergestellt, zu deren Hyperimmunisierung je 1 Hundeparatyphusstamm (Hpt) und 4 Schweinetyphusstämme benutzt wurden. Die 3 Tiere waren gleich hoch immunisiert und erhielten bereits je 25 ccm einer 24-stünd. Bouillonkultur der oben erwähnten Bakterienstämme in die Blutbahn.

Meine Untersuchungen bezogen sich einerseits auf die Feststellung des Grenztiters der Paratyphussera gegenüber 11 Abortusstämmen, andererseits versuchte ich gleichzeitig, die eventuellen Differenzen in dem Wirkungsradius zwischen Pferde- und Rinderserumagglutininen zu ergründen.

Den Grenztiter erreichte ich in der Weise, daß die Emulsion 6 Std. lang im Brutschrank gehalten wurde, wobei das Ablesen erst in 48 Std. erfolgte.

Untenstehende Tabelle zeigt die agglutinierende Wirkung der dreierlei Immunsera auf die 11 Paratyphus abortus-Stämme.

Bac. paratyphus abortus equi-Stämme	Rinderserum, monovalent. Hyperimmunisiert mit Kälbertyphus Stamm Kpt	Rinderserum, quinquevalent. Hyperimmunisiert mit Paratyphusstämmen: Sp, Sp 34, Sp 131, SpK, SpH	Pferdeserum quinquevalent mit Paratyphusstämmen: Sp, Sp 34, Sp 131, SpK SpH
1	—	—	—
2	—	—	1:4 000
3	1:200	1:400	1:800
4	1:200	1:400	1:800
5	1:200	1:200	1:4 000
6	1:200	1:64 000	1:16 000
7	1:64 000	1:2000	1:128 000
8	1:800	1:64 000	1:128 000
9	1:32 000	1:4,000	1:128 000
10	1:64 000	1:2 048 000	1:2 04 8000
11	1:2 048 000	.	1:2 048 000

Zum Vergleiche will ich gleichzeitig die agglutinierende Wirkung dieser 3 Immunsera auf die eigene, zur Impfung benutzten, nicht-abortus paratyphus-Stämme angeben.

Paratyphusstämme	Rinderserum monovalent	Rinderserum quinquevalent	Pferdeserum quinquevalent	Immunisierung
Kpt	1:256 000	1:800	1:256 000	Mit dem Stamm geimpft: Rind monovalent
Sp	1:200	1:1 000	1:256 000	Mit den 5 Stämmen geimpft: Rind und Pferd quinquevalent
Sp 34	—	1:800	1:8 000	
Sp 131	—	—	1:1 027 000	
SpK	1:8 000	1:8 000	1:256 000	
Hpt	1:512 000	1:512 000	1:515 000	

Aus den Tabellen geht vorerst das äußerst abweichende Agglutinationsvermögen der Immunsera gegenüber den Abortustyphusstämmen hervor, welche Agglutinationsvariabilität eine Schwankung von der Hypo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

agglutinabilität bis zum Millionentiter zeigt. Während die Pt. abort.-Stämme 3, 4 und 5 eine sehr geringe Agglutinabilität besitzen, ja sogar Stamm 1 überhaupt nicht agglutiniert werden konnte, wurde Stamm 11 sowohl durch das monovalente wie das polyvalente, sowohl vom Rinder- wie vom Pferdeserum auch in einer 2-millionenfachen Verdünnung noch agglutiniert. Da sämtliche Stämme alt und vielfach überimpft waren, kann der Grund dieses verschiedenen Verhaltens nicht in der nahestehenden Vermutung zu suchen sein, daß einzelne, wenig oder gar nicht agglutinierbare Stämme direkt aus den Organen stammten, in welchem Falle die Bakterien den Agglutininen gegenüber gewöhnlich eine größere Resistenz aufweisen können, während andere Stämme durch mehrmaliges Ueberimpfen auf künstliche Nährböden ihre diesbezügliche Resistenz verloren hätten und hierdurch eine Verbindung mit den Agglutininen leichter zustande kommen könnte. Da also die untersuchten Bakterienstämme alle durch viele Generationen auf Nährböden gezüchtet wurden und nicht von dem Organismus herstammten, kann das äußerst variable Verhalten der Paratyphusabortusstämme gegenüber den Agglutininen der Immunsera ausschließlich auf die spezifische, individuelle Eigenartigkeit der einzelnen Stämme zurückzuführen sein.

Durch Vergleiche beider Tabellen lassen sich folgende Ergebnisse feststellen:

Die Abortstämme werden im allgemeinen durch Paraty-Immunsera nicht abortierender Herkunft in gleicher Höhe agglutiniert, wie die zur Herstellung der Immunsera benutzten Paratyphusstämme. Es lassen sich sogar Abortstämme vorfinden, z. B. St. 11, denen gegenüber die agglutinierende Wirkung des Paratyphusserums sich erheblich höher stellt, als den zur Serumherstellung benutzten Stämmen gegenüber.

Bezüglich des Agglutinationsvermögens der Normalsera steht nach Burgis Untersuchungen das Rinderserum am 1. Platze, danach folgt das Normalpferdeserum. Bei den Paratyphusseren hingegen ändert sich, wie aus den Tabellen ersichtlich, das Verhältnis in der Weise, daß das spezifische Pferdeserum eine bedeutend größere agglutinierende Wirkung auf die Abortstämme aufweisen kann wie das Rinderimmunserum. Dieser Satz findet in den Agglutinationsergebnissen mit den Stämmen 2, 3, 4, 6, 7, 10, noch mehr 9, besonders auffallend jedoch in dem Abortusstamm 8 seine Bestätigung. Dieser letztere Stamm mag ein Prototypus der regelrechten Agglutination sein, da derselbe vom monovalenten Rinderserum bis zu einem Titer von 800, von dem polyvalenten Rinderserum bis 2000 agglutiniert werden konnte, während es durch das polyvalente Pferdeserum in einer Verdünnung von 1:128000 der Fall war.

Die wesentlich höhere agglutinierende Wirkungsbreite des Pferdeimmunserums wird auch in Tab. II durch die Versuche mit verschiedenen Schweineparatyphusstämmen: Sp, Sp 34, noch mehr mit SpK, sehr auffallend jedoch mit Sp 131, bestätigt. Letztgenannter Stamm war mit keinem der Rindersera agglutinierbar, nicht einmal mit dem polyvalenten Rinderserum, bei deren Herstellung der Stamm verwendet wurde, dahingegen konnte mit dem polyvalenten Pferdeserum ein millionenfacher Agglutinationstiter erzielt werden.

Das Pferdeimmunserum besitzt also ein größeres Agglutinationsvermögen den verschiedenen Paratyphusstämmen gegenüber, wie das gleich hoch immunisierte Rinderserum dagegen tritt aber das Agglu-

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

tinationsphänomen bei der Verwendung des Rinderserums rascher ein. Es erfolgt z. B. mit dem Stamm 11 in dem Rinderserum schon in der 3. Std. des Versuches bei einer Verdünnung von 1:64000 ein Niederschlag, während das Pferdeserum in dieser Zeit nur einen Bruchteil dieses hohen Titers, nämlich 1:16000, erreichte und erst in 24 Std. das Pferdeserum auf die Höhe der Rinderserumwirkungsbreite gelangte, um schließlich den Titer des ersteren weit zu überholen. Ein Beweis, daß auch eine 24-stünd. Beobachtungsfrist oft zu kurz bemessen ist!

Unter den zweierlei Rinderseris zeigte das polyvalente im allgemeinen eine größere Wirkungsbreite, wie aus dem Verhalten gegenüber den 3, 4, 8 Paratyphusstämmen ersichtlich ist, doch ist hier die Wirkungsdifferenz auffallend gering und kann dieser Umstand möglicherweise auf die gute agglutinogene Fähigkeit des zur Herstellung des monovalenten Rinderserums benutzten Kälberparatyphusstammes Kpt zurückgeführt werden. Diese spezifische agglutininbildende Eigenschaft kommt insbesondere dem Stamme Nr. 10 gegenüber zum Ausdruck, welcher durch das monovalente Rinderserum in einer größeren Verdünnung (1:64000) agglutiniert wurde, wie durch das quinquevalente Serum (1:4000).

Aus den angeführten Versuchen läßt sich also eine äußerst variable Agglutinabilität der Paratyphus abortus-Stämme gegenüber der Schweine-, Kälber- und -Hundeparatyphusimmunseris feststellen: Während eine große Gruppe der Stämme sich äußerst leicht mit den Agglutininen vereinigt, so daß bei einer millionenfachen Verdünnung Ausfällung erfolgt, kann mit dem anderen Teile der Bakterienstämme überhaupt keine Agglutination erzielt werden. Die auf die Abortusparatyphusstämme wirkenden Agglutinine sind in dem Pferdeimmunserum in größeren Mengen vorhanden als in dem Rinderimmunserum, dagegen kommt aber das Agglutinationsphänomen mit dem Rinderserum etwas rascher zum Vorschein, als mit dem gleichhochwertigen Pferdeserum.

Nachdruck verboten.

Versuche über die Vermehrung von Bakteriophagen.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. Bail).]

Von Dr. **Takima Matsumoto.**

Die Vermehrung von Bakteriophagen, die nach den Ergebnissen der Untersuchungen von Bail, Bordet und Ciuka, Dörr von der Anwesenheit lebender und sich selbst vermehrender Bakterien abhängt, zeigt noch manche der Aufklärung bedürftige Verhältnisse, die aber, sobald man im Besitze von reinen Bakteriophagen ist, einer genauen Bearbeitung zugänglich werden. Hierher gehört unter anderem die Frage, ob eine Vermehrung von Bakteriophagen nur mit jenen Bakterien möglich ist, welche der Wirkung dieser Bakteriophagen unterliegen. Im allgemeinen trifft dies zu, wenngleich bereits Andeutungen von Ausnahmen vorliegen. Wirkt z. B. ein Shiga-Bakteriophage des

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Typus γ (nach Bail) auf Shiga-Bazillen, nicht aber auf Typhus, so ist er nur mit dem ersteren vermehrbar und dauernd weiterzuführen, nicht aber mit dem letzteren.

Nun besitzen die Bakterien die Fähigkeit, gegen die meisten Bakteriophagen, denen sie unterliegen, bakteriophagenfeste Stämme auszubilden, deren Studium nicht nur theoretisch, sondern auch praktisch von Wichtigkeit ist. Denn da die erlangte Bakteriophagenfestigkeit im allgemeinen eine ausgesprochen spezifische ist und sich nur gegen jene Bakteriophagen richtet, mit dem sie erzeugt wurde, so bietet sie ein Hilfsmittel dar, das mit Vorteil zur Erkennung und Wiedererkennung von Bakteriophagen selbst verwendet werden kann. Die von Bail studierten, biologisch überaus interessanten Ausnahmsfälle von dieser Spezifitätsregel, die sich durch „Deckung“ und „Koppelung“ der für die Bakteriophagen geeigneten Gruppen des Bakterienleibes erklären lassen (Arch. f. Hyg. 1923), können hier vorläufig außer Betracht bleiben. Es ist bereits gelegentlich ermittelt worden, daß bakteriophagenfeste Bakterien eine Vermehrung der zugehörigen Bakteriophagen, die mit den Normalstämmen in größtem Ausmaße und der für jeden Einzelbakteriophagen zu ermittelnden, meist sehr bedeutenden Schnelligkeit eintritt, nicht zulassen. Dies genauer zu ermitteln, war der Zweck der folgenden Untersuchungen, für welche sehr verschiedene Bakteriophagen herangezogen wurden, welche zum Teil schon bekannt, zum Teil neu gezüchtet sind und die nach Maßgabe der heutigen Kenntnisse als rein, d. h. als einheitlich und dabei als erblich beständig angesehen werden müssen.

Die Technik schloß sich eng an die für Versuche der Bakteriophagenvermehrung übliche an. In Fleischbrühe wurde eine Bakteriophagenverdünnung angelegt, $^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt und ihre Bakteriophagenzahl auf der Platte genau bestimmt. In diese erfolgte reichliche, aber nicht trübende Einsaat von jungen Brühezuchten der zu prüfenden Bakterien. Zu bestimmten Zeiten wurde hierauf der Bakteriophagengehalt der bei genau 37° gehaltenen Proben neuerlich bestimmt. Bei den verwendeten Bakteriophagen ist im allgemeinen eine Zeit von 8 bis 9 Std. diejenige, innerhalb derer der Zuwachs der Bakteriophagen erfolgt. Mitunter ist schon nach 4—5 Std. die Höchstzahl erreicht, über welche hinaus eine weitere Vermehrung nicht stattfindet.

Die Gewinnung bakteriophagenfester Stämme erfolgt in der Weise, daß verhältnismäßig starke, bakteriologisch sterile Bakteriophagenkonzentrationen mit den Versuchsbakterien reichlich beimpft und 24 Std. bei 37° gehalten wurden. Aus den danach meist leicht getrübten Flüssigkeiten wurden die Kolonien der festen Bakterien auf Agarplatte isoliert und mindestens 5 Generationen hindurch immer von Einzelkolonien aus auf Agar fortgezüchtet. Man erreicht auf diese Weise der „ultrareinen Züchtung“ (vgl. Flu, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. Nr. 5), daß die von der Gewinnung den Kulturen anhaftenden Bakteriophagen mit Sicherheit entfernt werden. Ueberdies erhält man auf diesem Wege von vornherein den Beweis der Erblichkeit der Bakteriophagenfestigung.

Die verwendeten Bakteriophagen sind teils aus früheren Untersuchungen bekannt, teils sind sie neu aus menschlichen oder tierischen Entleerungen gezüchtet und mit aller heute möglichen Sorgfalt rein gezüchtet. Da dieses für genaue Versuche unbedingte Erfordernis am leichtesten für Dysenteriebakteriophagen zu erfüllen ist, wurden solche für die nachfolgenden Ermittlungen verwendet.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Shiga-Bakteriophagen Lauda γ und Lauda k, sowie Krato k sind von Bail eingehend beschrieben. Sie sind seither sehr häufig aus anderen, tierischen und menschlichen Stühlen gezüchiet worden und stellen wahrscheinlich mit dem Typus g die gewöhnlichsten Typen der überhaupt gegen Shiga gerichteten Bakteriophagen vor.

Die γ-Bakteriophagen bilden mit Shiga auf wenig konzentriertem (ca. 0,9-proz.) Agar große Löcher aus. Brühe lassen sie nach reichlicher Shiga-Einsaat lange klar, vermögen auch schon getrübte wieder aufzuhellen, geben aber nach 24 Std. so gut wie regelmäßig Trübung, die auf die Ausbildung fester Bazillen zurückzuführen ist.

Die k-Bakteriophagen bilden viel kleinere Löcher auf Agar aus, deren Größe auf $1^1/_2$—2-proz. Agar sehr gering ist, auf 0,9-proz. aber ansteigt und dann gewisse Schwankungen zeigt. Sie lassen reichlich mit Shiga geimpfte Brühe längere Zeit klar, nach 24 Std. tritt auch bei ihnen regelmäßig Trübung durch feste Bazillen ein.

Der Typus Krato k unterscheidet sich von ihnen durch Bildung deutlich größerer Löcher, die auf 2-proz. Agar noch als klein, auf 0,9-proz. aber als mittel zu bezeichnen sind.

Die gegen diese Bakteriophagen gebildeten festen Shiga-Stämme weichen in ihrem Wachstum auf Agar kaum von den normalen Bazillen ab. Auch in Brühe behalten sie ihr trübendes Wachstum bei, das nur in den ersten Generationen etwas zarter zu sein schien. Der gegen Krato k feste Shiga zeigt aber sehr oft eine neue Eigentümlichkeit darin, daß er bei geringer Trübung der Brühe Bodensatzbildung aufweist. Das Hauptmerkmal, in dem diese festen Stämme von dem Shiga-Ausgangsstamme abweichen, bildet ihre völlige Unempfindlichkeit gegen die zugehörigen Bakteriophagen. Man überzeugt sich leicht davon, daß diese Festigkeit eine ausgesprochen spezifische ist.

Die Festigkeitsprüfung erfolgt am einfachsten in der Weise, daß man 1 Tropfen junger Brühekulturen der festen Bazillen (mindestens 6 Generationen nach deren Gewinnung) mit ebensoviel einer konzentrierten Bakteriophagenaufschwemmung auf steriler Agarplatte mischt und über einen Teil ihrer Fläche ausstreicht. Während Kontrollausstriche mit empfindlichen Normal- oder andersartigfesten Stämmen vollkommenes Ausbleiben des Wachstums zeigen[1]) (in den nachfolgenden Versuchsbeschreibungen kurz als „leer" bezeichnet), entwickelt sich mit den festen Bazillen ein ungestörter Rasen. Es ergab:

Bphg	Lγ	mit Lγ fest: Rasen;	m. Lk fest: leer;	m. Krato k fest: leer;	m. Shiga leer
„	Lk	„ „ „ leer;	„ „ „ Ras.;	„ „ „ „	„ „ „
„	Krato k	„ „ „ „	„ „ „ leer;	„ „ „ Ras.;	„ „ „
„	Lg	„ „ „ „	„ „ „ „	„ „ „ leer;	„ „ „

Der Bakteriophage Lauda g gehört dem Typus der Bakteriophagen gegen Shiga an, der in der Form der auf Agar gebildeten Löcher dem Typus γ ähnelt, sich aber sonst von ihm bestimmt unterscheidet. Bail hatte in zahlreichen Versuchen gegen diesen Typus feste Bazillen nicht erzeugen können; auch die eigenen Untersuchungen führten nur zu Mißerfolgen. Wenngleich man durchaus nicht beim Mißlingen eines Festigungsversuches schließen darf, daß eine Festigung gegen den betreffenden g-Bakteriophagen überhaupt unmöglich sei, so sind doch alle Bemühungen, gegen g-Bakteriophagen des Shiga-Bazillus feste Stämme zu gewinnen, so erfolglos geblieben, daß es sehr wahrscheinlich ist, daß

1) Abgesehen von den einzelnen Kolonien fester Bakterien, die sich nach längerer Zeit auf solchen Stellen der Agarplatten einzustellen pflegen.

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

sich gegen diesen Bakteriophagentypus Festigkeit überhaupt nicht ausbilden kann.

Im übrigen ergibt die Uebersicht auf den ersten Blick die strenge Spezifität der Festigkeit bei den einzelnen Stämmen, die bei diesen Bakteriophagentypen durch nichts beeinflußt wird. Die Vermehrungsversuche ergaben mit aller Sicherheit, daß bakteriophagenfeste Bakterien den zugehörigen Bakteriophagen nicht zur Entwicklung gelassen, welche mit den normalen Ausgangsbazillen, wie mit anderen festen Stämmen derselben, in höchstem Grade und in typischer Weise erfolgt.

Für die folgenden Ausführungen ist im Anschluß an die bereits oben wiedergegebene Schilderung der Technik zu bemerken, daß die Zahlen immer die Anzahl der Bakteriophagen in 1 Oese einer Verdünnung angeben, welche hergestellt wurde, indem 1 Oese der Versuchsprobe in 1 ccm steriler Fleischbrühe eingebracht wurde. Diese Verdünnung wurde $^1/_2$ Std. auf 56° erwärmt und sodann mit junger Brühezucht des hochempfindlichen Ausgangsstammes von Shiga auf der Platte ausgestrichen. Da 1 ccm Flüssigkeit etwa 60 Oesen enthielt, müßten die angegebenen Zahlen mit 60 multipliziert werden, um den Bakteriophagengehalt von 1 Oese der Versuchsflüssigkeit zu ergeben.

	Sofort	Nach $1^1/_2$ Std.	Nach 3 Std.	Nach 9 Std.
Bphge Lγ Einsaat: Shiga	17 im Mittel	leer	leer	leer
„ „ Lγ fest		22	29	30
„ „ Lk fest		leer	leer	leer
„ „ Krato fest		„	„	„
Bphge Lk Einsaat: Shiga	19 im Mittel	ca. 600	leer	leer
„ „ Lγ fest		ca. 600	„	„
„ „ Lk fest		17	12	17
„ „ Krato fest		ca. 600	leer	leer
Bphge Krato k Eins.: Shiga	55 im Mittel	leer	leer	leer
„ „ „ Lγ fest		„	„	„
„ „ „ Lk fest		„	„	„
„ „ „ Krato k fest		52	47	46

Der Versuch gibt vollen Aufschluß und bedarf keiner weiteren Erläuterung.

Im Anschluß seien aber kurz einige Versuche wiedergegeben, welche an der Hand solcher Erfahrungen ein Beispiel für die Bestimmung und Identifizierung von Bakteriophagen liefern können. Im Laufe der Untersuchungen sind im Institute meist aus menschlichen Entleerungen eine Reihe von Shiga-Bakteriophagen gefunden und isoliert worden, die sämtlich mit Shiga große Löcher ergaben, aber einer genaueren Untersuchung bisher meist nicht unterzogen wurden. Von diesen wurden im Vergleich mit Lauda g und γ folgende geprüft: Hsg aus Hühnerkot, von Bail (Arch. f. Hyg. 1923) bearbeitet, Msg ebenfalls aus Hühnerkot frisch gezüchtet, Dsg, Gsg, Losg und Wsg, sämtlich aus menschlichen Entleerungen.

Von diesen wurde zuerst die Wirkungsbreite bestimmt, d. h. festgestellt, auf welche Bakterien sie überhaupt einzuwirken vermögen. Eine derartige Bestimmung wird selbstverständlich stets mangelhaft sein müssen, da die Auswahl der zur Untersuchnng genommenen Bakterienarten und Stämme einer Art eine rein willkürliche sein muß. Verwendet wurden: je 1 Stamm von Shiga, Flexner und y-Dysenterie, Typhus, die Coli-Stämme „Cord“, „Kraus“, „Pferd“ und „Paratyphus B“.

Eine eigentliche und hochgradige Wirkung übten alle diese 8 Bakteriophagen nur auf Shiga aus; die anderen Bakterien wurden nur

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelegentlich und immer nur in Form sehr kleiner, wenig scharfer, oft überhaupt unsicherer Löcher von sehr starken Bakteriophagenkonzentrationen beeinflußt. Dabei kam es sehr oft vor, daß, wenn z. B. die eine Untersuchung eine solche schwache Wirkung auf Coli Kraus ergab, die Wiederholung derselben nichts davon auswies. Beobachtet wurde sie am öftesten mit Coli Kraus, wo sie unsicher bei Lauda g und γ, stärker bei Hsg und Msg auftrat, dann bei Flexner, der öfter durch Hsg, Dsg und Msg beeinflußt wurde. Theoretisch können solche ganz geringfügige, unter besonderen Umständen nachweisbare Nebenwirkungen Bedeutung erlangen; für die praktische Arbeit der Bakteriophagenbestimmung sind sie belanglos. Demnach erscheinen alle erwähnten Bakteriophagen als praktisch wirkungsspezifisch für Shiga. Die Untersuchung ihrer Wirkung auf gefestigte Bazillen ergab sofort Anhaltspunkte dafür, ob sie zum g- oder γ-Typus gehörten. Die Prüfung wurde in der üblichen Weise so vorgenommen, daß starke Konzentrationen der Bakteriophagen auf 2 Shiga-Stämme einwirkten, die gegen Lγ und Hsg gefestigt waren, überdies zur Kontrolle auf Shiga, Lauda k fest und Krato k fest.

Die Bakteriophagen Lauda γ, Hsg, Gsg, Msg und Wsg wirkten weder auf Lauda γ fest noch auf Hsg fest, während sie auf die Kontrollbakterien stärkste Wirkung ausübten; hingegen wirkten Lauda g, Dsg und Losg ohne Unterschied alle Bakterien beeinflussend.

War damit schon höchst wahrscheinlich, daß die 1. Gruppe mit Lauda γ, die 2. mit Lauda g identisch sei, so ergab der Vermehrungsversuch den weiteren Beweis dafür. Denn Lauda g, Dsg und Losg vermehrten sich mit Lauda γ fest und Hsg fest gerade so gut wie mit Shiga, während Lauda γ, Hsg, Gsg, Msg und Wsg mit Lauda γ fest und Hsg fest innerhalb 9 Std. sich nicht zu vermehren vermochten.

Dieser Befund, daß 8 Bakteriophagen verschiedener Herkunft[1]) sich ohne Schwierigkeit identifizieren und innerhalb zweier bekannter Typen einordnen ließen, erweckt die Hoffnung, daß die Aufstellung einer Bakteriophagensystematik nicht nur möglich, sondern für gewisse Fälle nicht einmal besonders schwierig sein dürfte. Bisher ist wenigstens im Institute kein großer Bakteriophage mit echter Shiga-Wirkung aufgefunden worden, der nicht entweder dem g- oder γ-Typus entsprochen hätte. Daß eine weitere Bestätigung dieser Befunde die Bearbeitung des Bakteriophagenproblems wesentlich erleichtern würde, braucht nicht erst begründet zu werden.

Die Schwierigkeiten der Systematik beginnen aber bei allen jenen Bakteriophagen, die mit Nebenwirkung auf andere Bakterien ausgestattet sind. Hierher gehören schon die als „kleine Shiga-Bakteriophagen“ beschriebenen Typen des Lauda k und Krato k, vor allem aber die große Zahl von Coli-Bakteriophagen, wo eine Uebersicht derzeit noch nicht zu gewinnen ist.

Am Beispiele des Bakteriophagen Krato k sei dies dargelegt: Dieser wirkt nicht nur auf Shiga, sondern überdies in kleinen bis sehr kleinen Löchern mit Coli Cord und mit trüben, leicht überwachsenden Löchern auf Paratyphus B, nicht auf Flexner und Y-Dysenterie und die anderen der angewendeten Bakterien.

1) Hierher gehören ferner die schon früher beschriebenen Bakteriophagen „d'Herelle“, „Krato“, „Meier“, „Link“, „Dusch“ (vgl. Bail, Wien. klin. Wochenschr. 1922. Nr. 8 u. 35/39).

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Der Vermehrungsversuch ergab:

	Sofort	Nach 2 Std.	Nach 8 Std.	Nach 24 Std.
mit Shiga	54	ca. 350	leer	leer
„ Kratok fest	51	0	2	0
„ Laudak fest	38	ca. 400	leer	leer
„ Flexner	40	0	1	1
„ Y	41	0	2	2
„ Coli Cord	41	dichtest kl. Löcher	leer	leer
„ Coli Pferd	39	0	1	0
„ Coli Kraus	36	0	0	2
„ Typhus	36	0	0	1
„ Paraty B	48	65	leer	leer

Die Vermehrung von Kratok ist also gleich gut mit Shiga, Coli Cord und Paratyphus B möglich, und es ist danach ebensowenig wie nach der Wirkungsbreite zu bestimmen, ob ein Shiga, Coli oder Paratyphusbakteriophage vorliegt. Ganz offenbar ist, daß diese 3 verschiedenen Bakterien etwas Gemeinsames haben müssen, auf das das grundsätzlich gleiche Verhalten gegenüber Kratok zurückzuführen ist. Den übrigen fremden Bakterien, aber auch dem gegen Kratok gefestigten Shiga-Bazillus fehlt diese Gemeinsamkeit. Bail erklärt solche Befunde damit, daß er als Angriffspunkt (und auch Entstehungsquelle) der Bakteriophagen eine besondere Gruppe der generativen Substanz (Erbmasse) der Bakterien ansieht, welche von anderen Gruppen der gleichen Erbmasse unabhängig ist. Haben Bakterien trotz sonstiger Verschiedenheiten diese Gruppe gemeinsam, so werden sie auch dem gleichen Bakteriophagen erliegen und zu seiner Vermehrung Anlaß geben müssen. Kein Bazillus hingegen, dem diese Gruppe fehlt, wird von dem Bakteriophagen Katok angegriffen werden und ihn vermehren lassen. Flexner oder y-Dysenterie müssen sich also von Shiga dadurch unterscheiden, daß ihnen eine Gruppe ihrer generativen Substanz und damit auch die Gruppe ihres vegetativen Leibes, die von dieser aufgebaut wird, fehlt, oder daß sie durch eine andere ersetzt ist.

Wenn nun ein gegen Kratok gefestigter Shiga sich gegen Kratok nicht anders wie Flexner oder y-Dysenterie verhält, so muß auch ihm die generative Gruppe fehlen, auf die Kratok einzuwirken vermag. Tatsächlich erklärt auch Bail das Festwerden von Bakterien gegen Bakteriophagen als echte Mutation, bei der ein Teil der generativen Substanz verloren geht, womit naturgemäß auch ein Teil (eine Gruppe) des vegetativen Bakterienleibes ausfällt.

Was für Shiga-Bakteriophagen festgestellt wurde, gilt in ganz entsprechender Weise auch für Flexner und y-Bakteriophagen. Auch für diese ist das Vorkommen solcher, welche auf den Agarrasen große und kleine Löcher bilden, sichergestellt. Es wurden 2 auf y-Dysenterie wirkende, große Löcher bildende Bakteriophagen als Hyg und Myg aus verschiedenen Proben normalen Hühnerkotes geprüft, ferner die daneben aus den Proben mitisolierten, nur kleine bis sehr kleine Löcher bildenden Hyk und Myk.

Die Bestimmung der Wirkungsbreite ergab, daß beide großen Bakteriophagen ausschließlich auf Dysenteriebazillen wirkten, und zwar auf y immer in Form großer und sehr großer, ziemlich gleichmäßiger Löcher. Auf Shiga trat zwar regelmäßig, aber deutlich schwächere Wirkung ein, was sich außer an der Zahl auch an der Form der gebildeten Löcher erkennen ließ, die in der Größe stark schwankten und unscharf erschienen.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit Flexner waren die Löcher bei sonst starker Wirkung ebenfalls von schwankender Größe.

Die in Hyg und Myg gefestigten y-Bazillen erwiesen sich sofort als wechselseitig unempfindlich, während sie gegen die kleinen Bakteriophagen Hyk und Myk gefestigten ganz normal empfindlich blieben. Der ungeschlossene Vermehrungsversuch bestätigte sofort den daraus gezogenen Schluß der Uebereinstimmung beider großer Bakteriophagen. Er ergab folgende Vermehrung:

	Sofort	Nach 2 Std.	Nach 8 Std.	Nach 24 Std.
Bphge Hyg mit y	8	leer	leer	leer
„ „ „ Hyg fest	6	0	0	0
„ „ „ Myg fest	8	0	0	0
„ „ „ Hyk fest	4	2	leer	leer
„ „ „ Myk fest	11	9	leer	leer
„ Myg „ y	35	leer	leer	leer
„ „ „ Hyg fest	34	1	0	0
„ „ „ Myg fest	40	0	0	0
„ „ „ Hyk fest	35	2	leer	leer
„ „ „ Myk fest	50	1	leer	leer

Zu diesem Versuche ist zu bemerken, daß die anfängliche Bakteriophagenzahl („sofort“) durch Untersuchen von 1 Oese der Versuchsflüssigkeiten selbst, vor Einsaat der Bakterien ermittelt wurde, während für die nach 2, 8 und 24 Std. vorgenommene Prüfung 1 Oese der Versuchsproben in 1 ccm Brühe gebracht, $^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt und daraus in 1 Oese der Bakteriophagengehalt bestimmt wurde. Die Zahlen, die nach 2 Std. erhalten wurden, müssen also mit etwa 60 multipliziert werden, um denen der 1. Reihe zu entsprechen.

Die beiden kleinen Bakteriophagen zeigten eine viel umfangreichere Wirkungsbreite. Hyk wirkte in kleinen und sehr kleinen Löchern außer auf y auch auf Flexner und Coli Pferd, Myk auf die gleichen Bakterien, überdies aber auch noch regelmäßig in starker Konzentration auf Shiga. Zeigte sich hierin bereits ein Unterschied der beiden Bakteriophagen, der nicht zu vernachlässigen ist, so ergab sich ein weiterer in dem kulturellen Verhalten der gegen sie gefestigten y-Bazillen. Die Hykfesten zeigen sich sehr auffällig verändert, indem sie in Fleischbrühe klar oder fast klar unter Bodensatzbildung wachsen (vgl. Bail und Ohuda, Arch. f. Hyg. 1923), während die Mykfesten das trübe Wachstum der normalen y-Dysenterie beibehalten.

Dennoch deutet das sonstige Verhalten der gefestigten Bazillen auf eine engere Beziehung beider Bakteriophagen zueinander; denn der gegen Hyk gefestigte y war fest gegen Hyk und Myk, der gegen Myk gefestigte aber nur gegen Myk, während Hyk, wenigstens in starker Konzentration, ihn noch auf der Agarplatte in Gestalt kleiner Löcher zu beeinflussen vermochte. Ein ganz entsprechend eigentümliches Verhalten zeigte sich im Vermehrungsversuche (s. Tabelle S. 420).

Der ziemlich ausführlich wiedergegebene Versuch, bezüglich dessen zahlenmäßiger Darstellung das am Schlusse des vorigen Gesagte gilt, zeigt zunächst, daß die gegen Hyk gefestigten y-Bazillen eine Vermehrung weder von Hyk noch von Myk zulassen. Die gegen Mykfesten aber führen zwar für diesen Bakteriophagen selbst zu keiner Vermehrung, lassen aber eine solche beschränkten Grades für Hyk zu. Es scheint somit wohl eine gegenseitige Festigung von y-Dysenterie durch Hyk und Myk vorzuliegen, aber diese ist keine vollständige: Hyk festigt gegen sich wie gegen Myk völlig, Myk hat aber nur eine sozusagen minder-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Sofort	Nach 2 Std.	Nach 8 Std.	Nach 24 Std.
Bphge Hyk mit y	32	586	leer	leer
„ „ „ Hykfest	36	0	0	0
„ „ „ Mykfest	33	2	ca. 3000	ca. 3000
„ „ „ Hygfest	28	78	leer	leer
„ „ „ Mygfest	36	126	leer	leer
„ „ „ Shiga	52	1	0	0
„ „ „ Flexner	56	250	leer	leer
„ „ „ Coli Cord	65	0	0	0
„ „ „ Coli Pferd	42	ca. 600	leer	leer
„ „ „ Coli Kraus	58	23	250	670
„ Myk „ y	101	835	leer	leer
„ „ „ Hykfest	96	2	0	0
„ „ „ Mykfest	107	0	0	0
„ „ „ Hygfest	112	101	leer	leer
„ „ „ Mygfest	106	25	leer	leer
„ „ „ Shiga	108	0	0	0
„ „ „ Flexner	95	149	leer	leer
„ „ „ Coli Cord	116	0	0	0
„ „ „ Coli Pferd	127	ca. 2000	leer	leer
„ „ „ Coli Kraus	121	254	leer	f. leer

wertige Festigkeit erzeugt, die gegen den schwächer erscheinenden Bakteriophagen Myk ausreicht, nicht aber gegen den stärkeren Hyk.

Der Befund berührt die schwierige Frage, ob es verschiedene Grade von Bakteriophagenfestigkeit geben könne, wofür schon Anzeichen vorliegen. Befriedigend dürfte dieselbe mit den heutigen Kenntnissen noch nicht zu beantworten sein.

Auch in anderer Hinsicht bietet dieser Versuch Interesse: Zunächst sieht man, daß die Bakteriophagen sich nicht nur mit y, sondern auch mit Flexner-Dysenterie zu vermehren vermögen und überdies noch mit dem Coli-Stamm Pferd. Ja mit diesem scheint sogar die rascheste Zunahme zu erfolgen. Es ist danach gar nicht mit Sicherheit zu sagen, was für Bakteriophagen eigentlich vorliegen. Man könnte Hyk und Myk ganz gut als Coli-Bakteriophagen mit Nebenwirkung auf y bezeichnen.

Jedenfalls müssen nach der oben gegebenen Vorstellungsweise Bails y- und Flexner-Dysenterie eine gemeinsame generative Gruppe mit Coli Pferd haben, die ganz verschieden ist von derjenigen in y, auf welche die früher besprochenen großen Bakteriophagen Hyg und Myg wirken. Denn die Hyg- und Mygfesten Bazillen lassen Hyk und Myk ohne Schwierigkeit vermehren.

Kurz sei noch auf zwei Besonderheiten hingewiesen: Daß Hyk, welches auf Shiga nicht wirkt, sich damit nicht vermehrt, erscheint begreiflich, aber Myk, das wenigstens in stärkerer Konzentration auf der Platte immer mit Shiga reagiert, vermag sich mit diesem Bazillus nicht zu vermehren. Liegt hier — wenigstens anscheinend — ein Fall von Bakteriophagenwirkung ohne Vermehrung vor, so scheint für Coli Kraus das Umgekehrte zu gelten. Es ist bisher nicht beobachtet, daß dieser Stamm durch Hyk oder Myk merklich beeinflußt wurde, und doch haben sich beide Bakteriophagen damit vermehren können, Myk sogar recht gut. Fälle ähnlicher Art sind bereits bekannt; am auffälligsten ist in dieser Hinsicht die Wirkung organischer Kolloide, z. B. Gelatine, welche die sichtbare Wirkung, nicht aber die Vermehrung von Bakteriophagen hemmen, höchstens verändern können (Dörr, Nakamura, Arch. f. Hyg. Bd. 92. S. 61; Dörr und Berger, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 97. S. 422). Es fehlt noch an einer genaueren Analyse solcher Erscheinungen; dennoch dürfte der Schluß verfrüht sein, daß das Vor-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kommen von Bakteriophagenvermehrung ohne Bakteriophagenwirkung, ebenso wie das Umgekehrte einer Wirkung ohne Vermehrung, absolut gegen die Entstehung von Bakteriophagen aus den Bakterien spreche. Es ist vielmehr zu bedenken, daß das, was wir von den Bakteriophagen sinnlich wahrnehmen können (also Beeinflussung des Wachstums von Bakterien in Fleischbrühe oder auf Agar), nicht die einzige Wirkung sein muß, welche sie ausüben. Neben der sichtbaren kann eine an sich unsichtbare bestehen, die zur Vermehrung ausreicht. Andererseits ist eine Einwirkung von Bakteriophagen auf Bakterien denkbar, die so weit geht, daß auch deren generative Substanz, die sonst nach der Vorstellung von Bail die Bakteriophagen liefert, völlig zugrunde geht. Diese Möglichkeiten müssen eingehend geprüft werden, worüber Versuche schon weit vorgeschritten sind.

Von Flexner-Bakteriophagen wurden die ebenfalls aus normalem Hühnerkot stammenden Hfg, Hfk, Mfg und Mfk geprüft. Hfg und Mfg bilden mit Flexner große Löcher auf der Agarplatte; Hfg ist aber in seiner Wirkung ganz allein auf Flexner beschränkt, während Mfg auch mit Shiga und y-Dysenterie Löcher bildet, welche sich durch eine deutlich geringere Größe auszeichnen. Auf Typhus, Paratyphus und die Coli-Stämme wirkt keiner dieser Bakteriophagen. Daß beide verschieden sind, geht, abgesehen von ihrer verschiedenen Wirkungsbreite, aus dem Verhalten der gegen sie gefestigten Bazillen klar hervor. Denn gegen Mfg gefestigte Bakterien sind nur für Mfg unempfindlich, nicht aber gegen Hfg und umgekehrt.

Bei diesen Untersuchungen stellte sich übrigens heraus, daß der als Flexner-Bakteriophage aus Hühnerkot isolierte Mfg identisch sein müsse mit dem aus dem gleichen Material als y-Bakteriophagen isolierte Myg. Dementsprechend ist ein gegen Mfg gefestigter Flexner nicht nur gegen Mfg, sondern auch gegen Myg unempfindlich. Auch läßt sich Flexner gegen Myg festigen, und ein solcher Stamm wird von Mfg nicht mehr angegriffen.

Diesen Befunden entsprechen die Ergebnisse des Vermehrungsversuches:

	Sofort	Nach 2 Std.	Nach 8 Std.
Bphge Mfg mit Flexner	150	leer	leer
„ „ „ Mfgfesten Fleexner	130	0	0
„ „ „ Hfgfesten „	132	leer	leer
„ „ „ Mfkfesten „	130	leer	leer
„ „ „ Hfkfesten „	152	leer	leer
„ „ „ Mygfesten „	158	0	0
„ Hfg „ Flexner	5	leer	leer
„ „ „ Mfgfesten „	14	leer	leer
„ „ „ Hfgfesten „	7	0	0
„ „ „ Mfkfesten „	8	leer	leer
„ „ „ Hfkfesten „	14	leer	leer
„ „ „ Mygfesten „	10	leer	leer

Bezüglich der Zahlenbezeichnung gilt hier und in den folgenden Versuchen das früher Gesagte.

Der Bakteriophage Mfg vermehrt sich also mit allen Stämmen, außer mit den gegen ihn selbst und gegen Myg gefestigten, Hfg zeigt nur mit dem gegen ihn selbst festen Flexner-Bazillus keine Vermehrung.

Die kleinen Flexner-Bakteriophagen Hfk und Mfk, die mit Flexner ausschließlich kleine bis sehr kleine Löcher bilden, zeigen sich in ihrer Wirkung nicht auf dieses Bakterium beschränkt. Hfk wirkt außerdem noch sehr gut auf y, Mfk auf Shiga-Dysenterie, überdies auch auf Coli Cord, Typhus und Paratyphus B, verdient also den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Namen eines Polyphagen. Die weit abweichende Wirkungsbreite der beiden Bakteriophagen läßt bereits den Schluß auf ihre Verschiedenheit zu, der durch die Ergebnisse der Untersuchung der gegen sie gefestigten Bakterien sofort bestätigt wird. Denn Flexner, gegen Hfk gefestigt, ist für diesen Bakteriophagen, nicht aber für Mfk unempfindlich und umgekehrt.

Vermehrungsversuche ergaben:

	Sofort	Nach 2 Std.	Nach 8 Std.	Nach 24 Std.
Bphge Mfk mit Flexner	2	4	leer	leer
„ „ „ Mfkfest Flexner	4	0	0	0
„ „ „ Hfkfest „	3	2	leer	leer
„ „ „ Mygfest „	3	4	leer	leer
„ „ „ Shiga	5	0	3	0
„ „ „ y	6	1	leer	leer
„ „ „ Coli Cord	2	1	leer	leer
„ „ „ Coli Kraus	5	0	0	0
„ „ „ Coli Pferd	4	0	0	0
„ „ „ Typhus	7	2	0	0
„ „ „ Paratyphus B	3	2	leer	leer

Im ganzen gilt für diesen Bakteriophagen, dessen bevorzugte Zugehörigkeit zu Flexner-Dysenterie nicht unbestreitbar ist, das früher über den Bakteriophagen Hfk Gesagte. Zunächst wichtig ist, daß die erlangte Festigkeit gegen Mfk gleichzeitig die Vermehrung von Mfk mit diesem Stamme verhindert, während sie mit den empfindlich bleibenden Stämmen, die gegen die anderen Flexner-Bakteriophagen gefestigt sind, so wie mit dem normalen Ausgangsstamme erfolgt.

Genau entsprechend vermehrte sich der Bakteriophage Hfk nicht mit dem gegen ihn gefestigten Stamme, während mit den gegen Mfk, Hfg und Mfg unempfindlich gemachten Stämmen der normale Bakteriophagenzuwachs erzielt wurde. Von einigem Interesse sind Doppelfestigungen eines Bazillus gegen 2 verschiedene Bakteriophagen, wie sie zuerst von Bail unternommen worden waren. Sie wurden an Flexner mit den Bakteriophagen Mfg und Mfk, und an y-Desenterie mit Hyg und Hyk durchgeführt.

Der Wirkungsversuch auf der Agarplatte mit starken Bakteriophagen ergab:

Bphge mit	Flexner	Mfkfest	Mfgfest	Mfg + kfest
Mfg „	leer	leer	0	0
Mfk „	leer	0	leer	0
Bphge „	y	Hykfest	Hygfest	Hyg + kfest
Hyg „	leer	leer	0	0
Hyk „	leer	0	leer	0

Der Vermehrungsversuch zeigte:

	Sofort	Nach 2 Std.	Nach 8 Std.
Bphge Mfg mit Flexner	150	leer	leer
„ „ „ Mfgfest Flexner	130	0	0
„ „ „ Mfkfest „	130	leer	leer
„ „ „ Mfg + kfest „	145	0	0
„ Mfk „ Flexner	21	20	leer
„ „ „ Mfgfest „	19	4	fast leer
„ „ „ Mfkfest „	4	0	0
„ „ „ Mfg + kfest „	19	0	0
„ Hyg „ y	16	leer	leer
„ „ „ Hygfest y	20	θ	θ
„ „ „ Hykfest y	15	leer	leer
„ „ „ Hyg + kfest y	18	0	0
„ Hyk „ y	450	500	leer
„ „ „ Hygfest y	425	250	leer
„ „ „ Hykfest y	360	5	0
„ „ „ Hyg + kfest y	410	42	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Ergebnis stimmt also vollständig mit der Erwartung überein: eine Festigung gegen 2 verschiedene Bakteriophagen ist möglich und die Doppelfestigkeit äußert sich im Vermehrungsversuche so, daß eine Zunahme keines dieser Bakteriophagen mit dem doppelfesten Stamme mehr erfolgt.

Abgesehen von dem indirekten Beweise, welchen diese Versuche für die Vielheit von Bakteriophagen, die gegen dieselbe Bakterienart gerichtet sind, erbringen, bestätigen sie zunächst neuerlich die Brauchbarkeit der bakteriophagenfesten Bakterien für die Erkennung und Wiedererkennung von Bakteriophagen. Denn diese Festigkeit zeigt, von besonderen, hier nicht aufgetretenen Besonderheiten abgesehen, eine vollkommene Spezifität. Daraus läßt sich im allgemeinen mit großer Sicherheit schließen, daß 2 Bakteriophagen verschiedener Herkunft, welche einen gegen einen von ihnen gefestigten Bakterienstamm nicht zu beeinflussen vermögen, untereinander identisch sind.

Weiter hat sich mit aller Sicherheit ergeben, daß bakteriophagenfeste Bakterien nicht nur gegen ihren Bakteriophagen unempfindlich sind, sondern auch zu seiner Vermehrung keine Gelegenheit mehr geben. Sie verhalten sich in dieser Hinsicht wie völlig fremde Bakterienarten, auf welche der Bakteriophage von vornherein nicht zu wirken vermag. Hingegen lassen sie die Vermehrung von allen auf den Ausgangsstamm wirkenden anderen Bakteriophagen, so wie dieser selbst zu. Es gelingt aber auch, einen und denselben Bazillus gegen 2 verschiedene Bakteriophagen widerstandsfähig zu machen. In diesem Falle vermögen sich auch diese beiden Bakteriophagen nicht mehr mit ihm zu vermehren.

Die Befunde weisen neuerlich auf den Zusammenhang zwischen Bakteriophagenwirkung und Vermehrung hin, der so innig sein muß, daß die nicht zu bestreitenden Fälle, wo die eine ohne die andere vorkommt, in ganz besonderen Verhältnissen begründet sein müssen. Die eigentümlichen Erscheinungen der Bakteriophagenfestigkeit sind durch die meisten der bisherigen Anschauungen über das Wesen der Bakteriophagen nicht recht erklärbar. Ob man in diesen ein eigenes belebtes Virus sieht, oder die Wirkung eines Fermentes, so bleibt für die Festigkeit, die so regelmäßig und meist leicht eintritt, nur die Annahme einer „Selbstimmunisierung" der Bakterien; selbstverständlich ist dies keine Erklärung einer Tatsache, sondern streng genommen nur ein kurzer Ausdruck für dieselbe. Hingegen vermag die Annahme, welche in der Bakteriophagenwirkung eine Beeinflussung der normalen generativen Vorgänge eines Bakteriums sieht und in den Bakteriophagen selbst einen Abkömmling von dessen generativer Substanz, den ermittelten Befunden vollauf gerecht zu werden. Für diese Auffassung ist der bakteriophagenfeste Bazillus eine echte Mutation. Der Bakteriophage wirkt auf die Erbmasse des Bakteriums und verändert einen bestimmten, verhältnismäßig selbständigen Anteil derselben, der sonst eine bestimmte „Gruppe" des vegetativen Zelleibes aufbauen würde. Dieser Eingriff wird von der Mehrzahl der befallenen Bakterien nicht ertragen, sie gehen zugrunde. Einzelne Individuen aber überleben, indem sie die von Bakteriophagen befallene Gruppe ihrer generativen Substanz ausfallen lassen. Sie sind jetzt unempfindlich, weil der Bakteriophage keinen Angriffspunkt mehr an ihnen vorfindet und sich naturgemäß auch selbst nicht mehr mit ihnen vermehren kann.

Solche Bakterien sind aber auch vegetative Verlustmutanten, weil sie mindestens eine Gruppe des Zelleibes, den die unveränderte Erbmasse aufbauen würde, nicht mehr besitzen.

Generated on 2019-09-15 11:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ueber Schädigung der Leukozyten beim d'Herelleschen Phänomen.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (stellv. Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von **Ille Vallen,** cand. phil.

Mit 1 Abbildung im Text.

In einer früheren Arbeit wurde von Friedberger und mir beschrieben, daß bei der Bakteriolyse des d'Herelleschen Phänomens daneben vorhandene Erythrozyten hämolysiert wurden. Diese Hämolyse tritt nur ein, wenn gleichzeitig Bakterien (Typhus- oder Flexner-Ruhrbazillen) mit dem homologen Lysin und den Blutkörperchen zusammen aufeinander einwirken, nicht wenn das Lysin allein mit den Blutkörperchen gemischt wird. Im Anschluß an diese Versuche habe ich auf Anregung von Herrn Prof. Prausnitz festzustellen getrachtet, ob bei den Leukozyten ähnliche Verhältnisse vorliegen.

Die Versuchstechnik gestaltete sich, wie folgt: Die Leukozyten wurden gewonnen, indem Meerschweinchen mit 10 ccm Bouillon intraperitoneal oder Kaninchen mit 5 ccm Aleuronatbrei in die rechte Pleurahöhle injiziert wurden; das Exsudat wurde 24 Stunden später mit steriler Kapillare entnommen und zur Vermeidung der Gerinnung sofort zu gleichen Teilen mit 1 Proz. oxalsaurem Natrium versetzt. Von dieser Aufschwemmung wurden gleiche Mengen in 4 Röhrchen gefüllt: Röhrchen I Typhusbazillen + Typhuslysin + Leukozyten; Röhrchen II Typhusbazillen + Leukozyten; Röhrchen III Lysin + Leukozyten; Röhrchen IV Bouillon + Leukozyten.

Zum Nachweis einer Leukozytenschädigung erwies sich die bioskopische Methode von Neisser und Wechsberg nicht als geeignet: Da nämlich das Lysin allein die Leukozyten nicht schädigte, zeigte das Röhrchen III keine Herabsetzung der Methylenblaureduktion. Dagegen bewirkten die lebenden Typhusbazillen allein (Röhrchen II) schon eine starke Reduktion; bei Mischung von Bazillen und homologem Lysin (Röhrchen I) ist die Reduktion naturgemäß geringer, da die Typhusbazillen durch das Lysin rasch und weitgehend zerstört werden.

Andere Verfahren ergaben indessen ein deutliches Bild von der Schädigung der Leukozyten durch die d'Herellesche Bakteriolyse.

A. Hängende Tropfen vom Bodensatz der nach dem Neisser-Wechsbergschen Verfahren angelegten Gemische zeigten ausgesprochene Unterschiede in dem Grade der von den Leukozyten angenommenen Methylenblaufärbung:

Röhrchen I (Typhusbazillen + Lysin) fast die Hälfte der Leukozyten violett;
„ II (Typhusbazillen allein) höchstens $^1/_{10}$ schwach gefärbt;
„ III (Lysin allein) etwa $^1/_5$ mit schwach gefärbtem Kern und ganz schwacher Plasmafärbung;
„ IV (Bouillon allein) ähnlich wie III.

B. Die Vitalfärbung nach Nakanishi.

Hier wurde ein durchaus gleichsinniges Verhalten im gefärbten Präparat erhalten: im Röhrchen I gut färbbare, in der Kontrolle nur ganz vereinzelt und andeutungsweise kerngefärbte Leukozyten.

Generated on 2019-09-15 11:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Röhrchen Nr.	Inhalt: Leukozyten und	Phagozytose		
		stark	angedeutet	fehlend
	1. Karminversuch.			
I	Typhusbazillen + Lysin	3	28	69
II	Typhusbazillen	27	36	37
III	Lysin	26	42	32
IV	Bouillon	31	36	33
V	1 Tropfen Formalin	0	0	100
	2. Tuscheversuch.			
I	Typhusbazillen + Lysin	0	26	74
II	Typhusbazillen	26	52	22
III	Lysin	17	70	13
IV	Bouillon	14	68	18
V	1 Tropfen Formalin	0	0	100
VI	In dest. Wasser geschüttelte Typhusbazillen	26	51	23

C. Phagozytoseversuche.

Den wie oben angesetzten Röhrchen wurde zur Ermittelung der Phagozytose steriler Karminbrei oder sterile Tuscheaufschwemmung zugefügt; die Beobachtung erfolgte bei genauer Einhaltung der Temperatur von 37° im Brutraum. Nach 10 Std. erfolgte die Auszählung wieviel Prozent der Leukozyten starke, angedeutete und keine Phagozytose zeigten.

Der Grad der Schädigung der Leukozyten im Röhrchen I wird noch klarer zum Ausdruck gebracht durch graphische Darstellung, wobei fehlende Leukozytose durch das leere Feld, angedeutete durch Schraffierung, starke durch Schwärzung angegeben wird (vgl. Abb.).

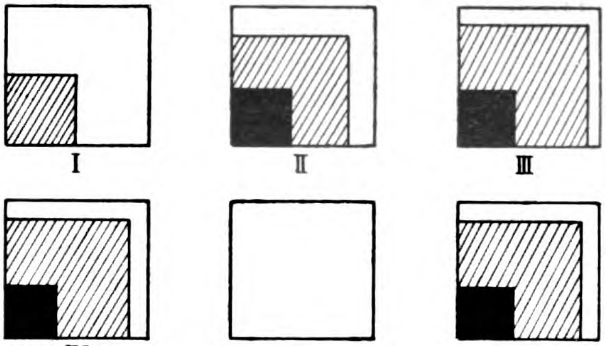


Fig. 1. Diagramm der Tuscheversuche.

Die Versuche haben also gezeigt, daß bei der Bakteriolyse des d'Herelleschen Phänomens eine starke Schädigung der Leukozyten erfolgt. Das Lysin allein ist für die Leukozyten harmlos. Man muß also zur Erklärung des Befundes zunächst annehmen, daß im Verlauf der Bakterienzerstörung Abbauprodukte entstehen, welche für die Leukozyten, ebenso wie für die roten Blutkörperchen, schädlich sind.

Literatur.

Friedberger u. Vallen, Klin. Wochenschr. 1923. S. 1649. — Nakanishi, Münchener med. Wochenschr. 1900. S. 187. — Neisser u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901. S. 299.

Generated on 2019-09-15 11:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Reagenzglasstudien zur bakteriziden Wirksamkeit des Hexals und Neohexals[1]).

[Aus der Medizinischen Klinik (Dir.: Geh. Rat Prof. Dr. Stintzing) und dem Hygienischen Institut (Dir.: Geh. Rat Prof. Dr. Abel) der Universität Jena.]

Von Dr. **J. Brinkmann,** Assistenten der Klinik.

Mit 2 Kurven im Text.

Verhältnismäßig bald, nachdem Loew (1) und Trillat (2) ziemlich gleichzeitig um das Jahr 1890 auf die keimwidrige Wirkung des Formaldehyds aufmerksam gemacht hatten, ging man auch zu dessen Anwendung als inneres Desinfiziens über [Jacobson (3)], und zwar wurde er zunächst in seiner Verbindung mit Milchzucker verwendet, in Form der sogenannten Formaminttabletten [Rosenberg (4)], die je 0,01 Formaldehyd enthalten.

Zweifellos ist das Formamint aber später vom Urotropin in Schatten gestellt worden. Zuerst von Butlerow dargestellt, wurde es von Nicolaier in die Therapie eingeführt, und zwar ursprünglich als ausgesprochenes Harndesinfiziens. Nach Richardsons (5) Vorgang aber suchte man es sich sehr bald auch beim Typhus und nächst dem bei allen übrigen Infektionskrankheiten zunutze zu machen [Crowe (6), Zak (7), Sachs (8), Plaschkes und Benkovic (9), Coglievina (10)]. Die gleichen Anwendungsgebiete wurden durch die Veröffentlichungen von Schnizers (11) und Weiß' (12) auch den sulfosalizylsauren Abkömmlingen des Urotropins, dem Hexal und Neohexal, erschlossen.

Wie es aber hinsichtlich der innerdesinfektorischen Wirkung des Urotropins empfindlich an genügender Breite der experimentellen Unterlagen mangelt, so erst recht bei diesen. Wenn man sich aber über die Wirkung des Hexals (Neohexals) bei Infektionskrankheiten miteinander auseinandersetzen will, so bedarf es meines Erachtens als Grundlage jeder weiteren Debatte Untersuchungen über dessen bakterizide Wirkung. Diese habe ich mich bemüht nachzuholen. Reagenzglasversuche sind natürlich immer nur ein Notbehelf. Die wirklichen Vorgänge im menschlichen Körper spiegeln sie nur höchst unvollkommen wider. Aber nicht einmal Tierversuche bringen uns ja immer in dieser Hinsicht weiter. Morgenroth (13) hat einmal auf die zuweilen klaffende Diskrepanz zwischen Reagenzglas- und Tierversuch aufmerksam gemacht. Solange wir aber keine anderen, den natürlichen Verhältnissen entsprechenderen Methoden haben, können wir diese zu gewissermaßen informatorischen Studien nicht entbehren.

Es wäre reizvoll, sich hier auf eine eingehende kritische Analyse der bisher vorliegenden bakteriologischen Untersuchungen über die Wirkung des Urotropins und seiner einzelnen Abkömmlinge einzulassen. Ich kann aber nur kurz an die Arbeiten von

1) Als Fortsetzung der Arbeit vgl. auch: „Studien zur keimwidrigen Wirksamkeit des Hexals und Neohexals im lebenden Organismus". (Ztschr. f. d. ges. exper. Medizin. 1924. und „Hexal- (Neohexal)wirkung bei Infektionskrankheiten". (München. med. Wochenschr. 1924.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nicolaier (13a), Suter (14), Wannier (15), Reche (16), Sachs (17), Müller [Helmitol] (18), Bruck [Neu-Urotropin] (19), Fries [Hetralin] (20), Forcart [Hippol und Borovertin] (21), Esch [Myrmalid] (22) erinnern. Im großen und ganzen beruhen alle diese Arbeiten auf einer schon aus der Vor-Urotropinära stammenden Methodik [vgl. z. B. Krause (22)]: der Harn eines Menschen, der genügend große Dosen des zu untersuchenden Mittels, z. B. 1—2 g Urotropin erhalten hat, wird aufgefangen, bei Zimmer- oder Brutschranktemperatur stehen gelassen und überdies noch nachträglich mit Reinkulturen, z. B. vom Bact. coli, beimpft.

Zweifellos hat diese ältere Versuchsanordnung etwas Bestechendes, scheinen doch die im Körper obwaltenden Bedingungen weitgehend gewahrt. Insofern ist Suter (24) beizustimmen. Worüber sie aber nichts aussagen konnte, war die jeweils wirksame Konzentration. Denn natürlich kann die Menge des Harns, speziell auch des Nachturins, in erheblichen Grenzen schwanken und somit die verabreichten Mittel in ganz außerordentlich verschiedener Konzentration enthalten. Was wir aber noch wissen müssen, und worüber diese ältere Methodik ebenfalls nichts aussagen kann, ist vor allem die Verdünnung, bei der die erste angedeutete oder vollkommene desinfektorische Wirkung festgestellt werden kann.

Ausgesprochene bakteriologische Untersuchungen über die Wirksamkeit des Hexals und Neohexals finde ich, soweit ich die Literatur übersehen kann, nur bei Frank (25) und Seegers (26). Außerdem liegen solche noch vor in einem Gutachten, das Dr. O. Makowka (27) für die I. D. Riedel A. G. ausgefertigt hat, und das mir von der Firma bereitwilligst zur Verfügung gestellt wurde. Der verwendeten Methodik haften aber mancherlei Mängel an, besonders der, daß keine Versuche über den Einfluß eiweißhaltiger Medien auf die Hexalwirkung angestellt worden sind.

Zur Prüfung der desinfektorischen Wirkung eines Medikaments stehen uns zwei Wege offen, die sogenannte Suspensions- und die Keimträgermethode. Die letztere hat z. B. Breitenstein (28) bei seinen Studien über die Wirkung des Yatrens gewählt. In unserem Falle schien sie mir nicht besonders zweckmäßig, weil ich ja nicht etwa die Wirkung des Hexals und Neohexals bei der Unschädlichmachung infektiöser Ausscheidungen, sondern bei den Infektionskrankheiten selbst studieren wollte. Diese Wirkung müßte in den mit Bakteriämien einhergehenden Infektionskrankheiten am idealsten zur Geltung kommen, also bei solchen, bei denen es sich gewissermaßen um Aufschwemmungen von Keimen im strömenden Blute handelt. Die Suspensionsmethode erschien mir deshalb der gegebene Modellversuch, obwohl wir hierbei freilich immer mit Keimmengen arbeiten, wie sie im lebenden Blute nie vorkommen. Hieran hat auch schon Buzello (29) einmal erinnert.

Bei der Auswertung eines inneren Desinfiziens liegt uns besonders an einem Urteil über die Konzentration, die selbst die resistentesten Keime vernichtet und uns so vor unliebsamen Rezidiven oder weiteren Infektionsübertragungen bewahrt. Ein solches verschaffen wir uns an Hand der sogenannten Endmethode, zu deren Verwendung ich mich auch im vorliegenden Falle entschlossen habe.

Endlich habe ich mit dem sogenannten Abtötungsversuch gearbeitet, denn es sollte ja die Wirkung des Hexals und Neohexals bei Infektionskrankheiten studiert werden, bei Zuständen also, bei denen bereits Keime in großen Mengen im Körper vorhanden sind, und bei denen es sich darum handelt, diese chemo-therapeutisch zu vernichten.

Meine experimentelle Arbeitsweise bestand also, um es noch einmal kurz zu präzisieren, im Abtötungsversuch bei gleichzeitiger Anwendung der Suspensions- und Endmethode.

Geprüft wurde der Einfluß auf Coli, Bac. typhi, Shiga-Kruse, Staphylococcus aureus, Streptococcus haemolyt., Pneumococcus, Diplococcus pleom. Wiesner, Diphtheriebazillen. Im großen und ganzen sind immer dieselben Stämme benutzt worden. Das ist zweifellos eine empfindliche Einschränkung der Versuche [vgl. z. B.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hailer (30)]. Es waren aber von vornherein verschiedene Vergleichsversuche mit anderen Formaldehyd abspaltenden Mitteln, zum Teil auch mit ganz anders charakterisierten Desinfizientien geplant. Ich mußte die Beschränkung wohl gelten lassen, wenn ich nicht eine gar zu große Anzahl von Versuchen anzustellen gezwungen sein wollte. Die einzelnen Stämme rührten zum Teil von Eingängen des hiesigen Bakt. Untersuchungsamtes her, zum Teil von selbst beobachteten klinischen Fällen, über die anderen Orts noch zu berichten sein wird.

Im vorhinein zielte ich darauf hin, Hexal und Neohexal nicht nur gegen Bazillenaufschwemmungen in physiol. NaCl-Lösung, sondern auch in eiweißhaltigen Medien verschiedenster Herkunft zu prüfen, also in Bouillon, Harn, Ascitesflüssigkeit, Serum, defibriniertem Blute. Es wurden, ausgehend von 24-stünd. Kulturen in Schrägagarröhrchen mit dem für die betreffenden Keime spezifischen Substrate, also Agar, Loeffler-Serum, Blutagar, Bazillenaufschwemmungen unmittelbar mit der betreffenden Lösungsflüssigkeit hergestellt, so zwar, wie man es auch bei der Bereitung von Vakzinen zu üben gewohnt ist, daß durch die mäßig trübe Flüssigkeit eben noch ein Fensterkreuz einigermaßen deutlich zu erkennen war. Mit diesen Aufschwemmungen wurde das Reagensgläschen beschickt und dazu Hexal bzw. Neohexal, von einer 10-proz. Lösung ausgehend, zupipettiert, so daß das Mittel jeweils zu 1—0,1 Proz. in den Gläschen enthalten war. Es wurden nun zunächst einmal die Veränderungen der Aufschwemmungen selbst beobachtet, protokolliert und nach 24 Std. eine Normalöse auf Platten aus Spezialnährböden verimpft. Nach wieder 24 Std. wurde das erreichte Bakterienwachstum abgelesen.

Diese Versuchsanordnung hat eine Fehlerquelle, die zugegeben werden muß: es ist dabei nicht genügend berücksichtigt, daß beim Abimpfen der mit Hexal und Neohexal versetzten Bakterienaufschwemmungen mit den Bakterien zugleich auch die desinfektorischen Agentien mit auf die zu beimpfende Nährstoffplatte übertragen werden, und daß sich hier eine entwicklungshemmende Wirkung entfalten kann, die gewöhnlich schon bei sehr feinen Verdünnungen Platz greift. Ich erinnere an die diesbezüglichen Arbeiten von Geppert (31) und Hailer (32). In unserem Körper aber spielen sich zweifellos nebeneinander Abtötungs- und Hemmungswirkungen ab, so daß die Versuchsanordnung, wenn sie auch nicht ganz den strengen Regeln der für die Prüfung eigentlicher Desinfektionsmittel geltenden Lehre entsprechen sollte, doch einigermaßen den im Körper obwaltenden Verhältnissen gerecht wird. Zudem ist ein mit chemischem Desinfiziens imbibierter und in seiner Entwicklung gehemmter Keim für den infizierten Körper so gut wie kampfunfähig, über den die natürlichen Abwehrkräfte der Blut- und Gewebszellen über kurz oder lang obsiegen müssen.

Von einer ausführlichen Wiedergabe der einzelnen Versuchsprotokolle sehe ich der Kürze halber ab und fasse die gewonnenen Ergebnisse tabellarisch zusammen.

Ueber die bakterizide Wirkung von Hexal und Neohexal Bakterienaufschwemmungen in physiol. NaCl-Lösung gegenüber gibt uns die folgende Tab. I Auskunft. Die Bezeichnung ist dabei so gewählt, daß — kein Wachstum, + einzelne, ++ zahlreichere Kolonien, +++ reichliches, ∞ so kräftiges Wachstum bedeutet, daß man eine einzelne Kolonie kaum oder gar nicht mehr erkennen kann.

Was in die Tabelle nicht mit aufgenommen wurde, ist die kleine Diskrepanz zwischen 2 Prüfungen Coli gegenüber, denen zufolge sich das eine Mal nämlich bei 0,1 Proz. Neohexal einzelne Kolonien fanden, das andere Mal schon bei 0,25 Proz. unendlich üppiges Wachstum. Aehnliche Unterschiede haben sich dann auch später bei anderen Prüfungen gefunden. Am zwanglosesten erklären sie sich wohl mit Schwan-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Aufschwemmung in phys. Kochsalzlösung von	Neohexal					Hexal					Kontrolle	Unbeimpfte Kontrolle
	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %		
Coli	—	—	—	—	+	—	—	—	—	++	∞	—
Typhusbazill.	—	—	—	—	+	—	—	—	—	++	∞	—
Shiga-Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Staphyl. aur.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	—
Strept. haem.	—	—	—	—	++	—	—	—	—	+	++	—

kungen der Resistenz ein und desselben Stammes an verschiedenen Tagen. Es sei hierbei an die Arbeiten von Samter (33) und Hailer (34) erinnert.

Den Nährmedien, wie sie im tierischen Körper gegeben sind, steht am nächsten die Bouillon. Anfänglich wurde solche benutzt, wie sie nach landläufigem Rezept in allen Instituten annähernd gleich hergestellt wird, später solche aus sogenannter Hottinger-Brühe. Die Bakterienaufschwemmungen wurden, wie schon gesagt, unmittelbar mit der Bouillon selbst hergestellt. Es wurden aber auch Hexal und Neohexal in der Bouillon selbst gelöst. Der Gedanke dabei war, daß ja die Mittel im Körper auch in die Bakterien enthaltenden Medien unmittelbar übergehen. Es sollte also auch im Reagenzglasversuch den beiden Mitteln ausreichend Zeit gegeben werden, sich mit dem etwaigen Eiweißgehalt der Bouillon auseinanderzusetzen. Bei der Durchsicht meiner Protokolle fällt mir auf, daß bei den späteren Versuchen für das Hexal eine feine milchige Auflösung in der Bouillon notiert worden ist, während ein derartiger Eintrag bei den ersten Experimenten fehlt. Das muß notwendigerweise mit dem Uebergang von gewöhnlicher Bouillon zu solcher aus Hottinger-Brühe zusammenhängen. Ueber die bakteriologischen Ergebnisse belehrt uns Tab. II.

Tabelle II.

Aufschwemmung in Bouillon von	Neohexal					Hexal					Kontrolle	Unbeimpfte Kontrolle
	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %		
Coli	—	—	—	∞	∞	—	—	—	∞	∞	∞	—
Typhusbazill.	—	—	—	+++	+++	—	—	—	+++	+++	∞	—
Shiga-Kruse	—	—	—	+	++	—	—	—	—	+	∞	—
Staphyl. aur.	—	—	—	++	++	—	—	—	++	++	∞	—
Strept. haem.	—	—	—	—	∞	—	—	—	—	++	∞	—
Pneumococc.	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	++	—
Diplococcus Wiesner	—	—	—	—	∞	—	—	—	—	++	∞	—
Diphtherie	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	∞	—

Das, was beim Anblick der Tabelle ohne weiteres auffällt, ist, daß zum Teil schon höhere Konzentrationen zum Abtöten der Keime notwendig sind. Auch hier wieder wie oben gleitende Unterschiede in der Resistenz der Stämme. Bei diesem wie beim ersten Versuch ließ sich eine spezifische Wirkung gegenüber einer der gewählten Bakterienarten nicht erkennen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von den tierischen Nährmedien steht der Bouillon wohl am nächsten der Harn. Während der ganzen Versuchsreihe wurde als Aufschwemmungssubstrat Harn von einer und derselben gesunden männlichen Person benutzt, der im freien Strahl aufgefangen wurde. Die Lösung von Hexal und Neohexal erfolgte in ihm prompt. Die erzielten Versuchsergebnisse stimmen mit denen der Tab. II annähernd überein, so daß wir uns eine ausführliche tabellarische Wiedergabe ersparen können.

Um nunmehr die Versuche zu so eiweißhaltigen Medien überzuführen, wie sie im Blute und Blutserum gegeben sind, wurden zunächst solche mit Ascitesflüssigkeit angestellt. Diese war lange gehaltener Laboratoriumsvorrat. Das Chloroform, das ihm zur Konservierung zugesetzt war, wurde verdampft. Neohexal, 10-proz. der Ascitesflüssigkeit zugesetzt, löste sich darin vollkommen. 1 g Hexal dagegen auf 20 ccm Ascitesflüssigkeit gab eine milchige Trübung mit mehr weniger feinflockigem Niederschlag. Die bakteriologische Untersuchung ergab folgende Verhältnisse:

Tabelle III.

Aufschwemmung in Ascitesflüssigkeit	Neohexal					Hexal					Kontrolle	Unbeimpfte Kontrolle
	1%	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %		
Coli	—	—	—	+	++	—	—	—	—	++	∞	—
Typhusbazill.	—	—	—	++	++	—	—	—	—	++	∞	—
Staphyl. aur.	—	—	—	+	++	—	—	—	—	++	+++	—

Der durch Hexalzusatz erfolgende Niederschlag war zu auffallend, um für die bakterizide Wirkung bedeutungslos sein zu können. Es war zu vermuten, daß die abtötende Kraft hierdurch abnehmen müßte; denn es mußten, um zunächst einmal gar nichts vorwegzunehmen, im Niederschlag wirksame Bestandteile des Mittels gebunden sein. Ein einfacher Versuch müßte uns hierüber Aufklärung bringen können: wenn wir der Bakterienaufschwemmung einmal Hexal, 10-proz. in Aq. dest. gelöst, zusetzen würden, müßte irgendein Unterschied in der Wirkungsweise deutlich werden. In der Tat ergab sich, wie Tab. IV zeigt, eine auffallend stärkere bakterizide Wirkung, wenn das Hexal, statt in der Ascitesflüssigkeit, in Aq. dest. gelöst und so den Bakterienaufschwemmungen zugesetzt wurde.

Tabelle IV.

Aufschwemmung in Ascitesflüssigkeit von	Hexal in Aq. dest. gelöst				
	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %
Coli	—	—	—	—	—
Typhusbazillen	—	—	—	—	++
Staphylococcus aur.	—	—	—	—	—

Nunmehr konnte daran gegangen werden, zu studieren, wie sich die Wirkung der beiden Mittel im Serum gestalten würde. Ich benutzte hierzu Pferdeserum, das mir in der entgegenkommendsten Weise von der hiesigen tierärztlichen Klinik zur Verfügung gestellt wurde. Auch hierin löste sich das Neohexal glatt, während das Hexal wieder nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anfänglicher Zusammenklumpung die milchige Trübung ergab, das Serum hierbei zu einer zähflüssigen Masse machend. Nach 24 Std. war es bereits ein gleichmäßig dicker, weißer Brei ohne einen Tropfen darüber stehender pipettierbarer Flüssigkeit. Nach 48 Std. war auch die anfangs klare Neohexalserumlösung milchig getrübt. Es müssen also weitgehende chemische Prozesse zwischen den beiden Mitteln und dem Serum statthaben.

Ihr Einfluß auf die bakterizide Wirkung durfte im vornherein als bedeutend eingeschätzt werden. Und diese Voraussetzung wurde, wie Tab. V zeigt, durch den Ausfall der Versuche vollkommen bestätigt.

Tabelle V.

Aufschwemmung in Pferdeserum von	Neohexal					Hexal					Kontrolle	Unbeimpfte Kontrolle
	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %		
Coli	—	—	∞	∞	∞	—	—	—	+	∞	∞	—
Typhusbaz.	—	+	++	∞	∞	—	—	++	+++	+++	∞	—
Staph. aur.	++	++	∞	∞	∞	—	+	+	++	++	∞	—

Auch hier wurden wieder Parallelversuche angestellt, bei denen Hexal und Neohexal in Aq. dest. gelöst und dann den Bakterienaufschwemmungen zugesetzt wurden, und die wieder ebenso überzeugend wie der Vergleich der Tab. III und IV lehrten, wie umfangreich die chemische Bindung zwischen den wirksamen Bestandteilen der beiden Mittel und den Serumkörpern sein muß.

Menschliches Serum stand mir aus leicht ersichtlichen Gründen nicht in den Mengen zur Verfügung, wie sie nötig gewesen wären, um damit gleich umfangreiche Untersuchungen wie mit dem Pferdeserum anzustellen. Ein Aderlaß aber, der sich bei einem Urämiker nötig machte, lieferte mir doch wenigstens so viel Serum, daß ich einen Versuch in kleinerem Umfange mit Typhusbazillen als Testobjekt durchführen konnte. Die erzielten Ergebnisse stimmen mit den in Tab. II niedergelegten Resultaten nahezu völlig überein.

Reagenzglasversuche nur mit Serum schienen mir die im strömenden Blut sich abspielenden Verhältnisse nicht genügend widerzuspiegeln. Es war sehr wohl anzunehmen, daß die chemisch wirksamen Stofte der beiden Mittel nicht nur Verbindungen mit Serumbestandteilen, sondern auch mit denen der Blutkörperchen eingehen könnten. In erster Linie war dabei an den Formaldehyd zu denken, dessen große Reaktionsfähigkeit bekannt ist. Seine Befähigung, mit Eiweiß Verbindungen einzugehen, hat Gegenbauer (35) besonders studiert. Kürten (36) hat an die chemische Verbindung zwischen Formaldehyd und Aminosäuren erinnert. Der größere Anteil an diesen entfällt aber eben auf die Formelemente des Blutes, besonders auf die roten Blutkörperchen, denen die Aufgabe des Transportes der Eiweißbausteine bei dem „Aminosäurestoffwechsel" (Abderhalden) zuzukommen scheint. Abderhalden und Kürten (37) konnten jedenfalls zeigen, daß die roten Blutkörperchen in vitro gelöste Aminosäuren adsorptiv und somit reversibel zu binden vermögen.

Bei den zum Studium dieser Verhältnisse angesetzten Versuchen arbeitete ich mit defibriniertem Pferdeblut, das mir ebenfalls von der tierärztlichen Klinik zur Verfügung gestellt wurde. Neohexal löste sich

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

in ihm anstandslos. Indem man es dem Blut zusetzte, er hellrote Flüssigkeit. Hexal dagegen verursachte einen Nie dunklen groben Klümpchen. Das mit Neohexal versetzt aber innerhalb 24 Std. einen tiefschwarzen Farbton an. Z ein grober, festhaftender Bodensatz niedergeschlagen, ül dünnflüssige schwarze Lösung steht. Die Blutprobe dageg zugesetzt war, stellte sich nach 24 Std. als dicke, schw Masse dar. Es ist interessant, auch hier wieder zu beoba chemischen Reaktionen zwischen den wirksamen Bestandte hexals und Hexals mit entsprechenden organischen Stoff elemente des Blutes zur vollen Auswirkung eine gewisse Ze Gegenbauer (38) zeigte, wie die volle Bindungsgröße der aldehydverbindung erst nach längerer Zeit der Berührung (2 Tagen) erreicht wird, und wie bei kürzerer Berührung dungsgröße von der Konzentration des Formaldehyds abhä

Wie oben schon ausgeführt, ging auch hier die Techn Bakterien in dem defibrinierten Blute aufzuschwemmen, Re mit entsprechenden Mengen von diesen Aufschwemmungen und dann Neohexal-, bzw. Hexallösung hinzuzupipettieren. folgte kräftige Umschüttelung, zum Teil unter Rührbewegun ausgeglühten Platinnadel. Sehr bald aber setzten sich do roten Blutkörperchen, immer kräftiger zusammensinternd Dieser Vorgang legte es nahe, die beiden deutlich voneinand Bestandteile des Inhaltes der Reagiergläschen auch geson logisch zu untersuchen. Ich will einmal, nichts vorwegn Sediment und Flüssigkeit reden. Die sich ergebenden werden durch Tab. VI illustriert.

Tabelle VI.

Aufschwemmung in defibriniertem Pferdeblut von		Neohexal					Hexal			
		1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,2
Coli	Flüssigkeit	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
	Sediment	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	[illegible]
Typhusbaz.	Flüssigkeit	+	+	++	+++	+++	+	++	++	+
	Sediment	+	+	+	++	∞	+	+	++	+
Staph. aur.	Flüssigkeit	—	+	++	++	+++	+	++	++	+
	Sediment	+	+++	+++	∞	∞	∞	∞	∞	[illegible]

In Parallele hierzu zeigt Tab. VII die Wirksamkeit v jungfräulichen Neohexal- und Hexallösungen, jungfräulichen

Tabelle VII.

Aufschwemmung in defibriniertem Pferdeblut von		Neohexal in Aq. dest. gelöst					Hexal in Aq. des			
		1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,2
Coli	Flüssigkeit	—	—	—	+	++	—	—	—	[illegible]
	Sediment	—	—	—	++	++	—	—	∞	[illegible]
Typhusbaz.	Flüssigkeit	—	++	+++	+++	+++	—	—	++	+
	Sediment	+	+	++	++	++	+	+	++	+
Staph. aur.	Flüssigkeit	++	+++	+++	+++	+++	—	—	+	[illegible]
	Sediment	∞	∞	∞	∞	∞	++	+++	∞	[illegible]

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

sie bis zur Zupipettierung keine Gelegenheit zur Verbindung mit Eiweißkörpern hatten. Die größere Wirksamkeit von Hexal und Neohexal bei dieser Versuchsanordnung fällt ohne weiteres in die Augen. Was fernerhin ebenfalls ohne weiteres deutlich wird, ist der größere Schutz, den die Bakterien im Bereich der sedimentierten Formbestandteile des Blutes finden. Dies wäre nach dem, was schon oben auseinandergesetzt wurde, vielleicht auch chemisch zu erklären auf Grund des größeren Gehaltes der roten Blutkörperchen an Aminosäuren. Der Vorgang dürfte aber auch noch seine mechanische Seite haben insofern, als die Sedimentierung so rasch und energisch erfolgte, daß die Desinfizientien trotz der Aufschüttelung nicht bis zu den tief am Boden des Reagenzglases fest zwischen rote Blutkörperchen gebetteten Bakterien gelangen konnten. Insofern könnte uns auch der Versuch gleichzeitig die ungeheuren Schwierigkeiten illustrieren, die sich dem Vorhaben entgegenstellen, von der Blutbahn aus — bei stomachaler und intravenöser Gabe — einen irgendwo im Gewebe versteckt liegenden Bazillenherd wirksam mit inneren Desinfektionsmitteln zu bekämfen.

Wenn wir die bisherigen Versuche noch einmal kurz überblicken, so zeigte sich eine mehr und mehr zunehmende Abschwächung der bakteriziden Kraft des Hexals und Neohexals, je eiweißreicher das Medium wurde, in dem wir die Bakterien aufschwemmten. Cahn-Bronner (39) hat einmal die Wirkung von Chinin, Salizylsäure, Trypaflavin, Karbol, Sublimat gegen Bakterienaufschwemmungen in verschiedenen Nährmedien studiert. In einfachen Nährmedien wirkten sie stärker hemmend als in Bouillon. Zusatz von Traubenzucker zum einfachen Nährboden konnte diese stärkere Wirkung nicht aufheben, dagegen ein solcher von Aminosäuren oder Pepton. Diese Dinge mögen bei unseren Versuchen auch mitsprechen. Ausschlaggebend schienen mir aber die chemischen Verbindungen, die offenbar eingegangen wurden. Dafür sprechen die Parallelversuche mit Neohexal und Hexal, einmal in eiweißhaltigem Medium und das andere Mal in Aq. dest. gelöst. Beide Agentien müssen hierbei eine Rolle spielen. Die Sulfosalizylsäure ist seit langem als Reagens auf Eiweiß in klinischem Gebrauche. Neuerdings macht Kaufmann (40) darauf aufmerksam, daß man sich auch des Formalins zu dem gleichen Zwecke bedienen könne. Ein einfacher Versuch belehrt uns darüber, daß der Niederschlag ein ganz wesentlich deutlicherer ist, wenn wir Sulfosalizylsäure, als wenn wir Formaldehyd zu Bouillon, Harn, Ascitesflüssigkeit, Serum, ungeronnenem Blute zusetzen. Man darf wohl die bei Ascitesflüssigkeit, Serum, defibriniertem Blute sowohl bei Neohexal- wie ganz besonders bei Hexalzusatz innerhalb 24 Std. immer stärker werdende Zusammenbackung auf die allmählich ausreifende Formaldehydwirkung zurückführen. Ich denke dabei an die Gegenbauerschen Versuchsergebnisse. Man könnte sich aber auch mit Reiner und Marton (41) eine schließliche Gerbung durch den Formaldehyd vorstellen, wobei die Eiweißsulfosalizylsäureverbindungen die Gerbungskeime (Reiner) abgeben würden. Uebrigens spricht für die Ueberwertigkeit der Sulfosalizylsäure bei der sofortigen Niederschlagsbildung der Umstand, daß sie beim Hexal, das doch prozentual viel mehr Salizylsäure enthält als das Neohexal, auch eine sehr viel stärkere ist.

Schon frühzeitig ist der Formaldehyd von Nicolaier selbst als das wirksame Moment bei der Urotropinwirkung erkannt worden. Für uns Spätere ist es reizvoll zu sehen, wie alles das, was uns heute fast banal scheinen will, erst einmal durch intensive Beobachtung erarbeitet werden

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle

Aufschwemmung in Bouillon von	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %
	Neohexal entsprechend: Hexamethylentetramin					Neohexal entsprechend: Sulfosalizylsäure				
	0,6 %	0,45 %	0,3 %	0,15 %	0,06 %	0,4 %	0,3 %	0,2 %	0,1 %	0,04 %
Coli	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
Typhusbaz.	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++
Staphyl. aur.						∞	∞	∞	∞	∞

mußte. Beim Hexal und Neohexal ist die Sache insofern erschwert, als neben dem Formaldehyd auch die Sulfosalizylsäure bakterizide Wirkung ausüben könnte; ist doch früher die Salizylsäure als mildes Desinfiziens geschätzt gewesen, und wird sie doch auch heute noch von uns gelegentlich bei Darmstörungen offenbar infektiösen Charakters gern benutzt.

Nach den von Kowanitz (42) gemachten Angaben ist das prozentuale Verhältnis von Hexamethylentetramin zur Sulfosalizylsäure im Hexal 39,1 : 60,9, im Neohexal 56,7 : 43,3. Um die Versuche einigermaßen zu erleichtern, darf man wohl, ohne dieses Verhältnis zu sehr zu verschieben, nach oben und unten auf ganze Zehner abrunden. Man würde dann sagen dürfen, im Hexal verhält sich das Hexamethylentetramin zur Sulfosalizylsäure wie 4 : 6, im Neohexal genau umgekehrt wie 6 : 4. Wir würden dann die Versuche so anstellen können, daß wir mit Hexamethylentetramin- und Sulfosalizylsäuredosen operieren könnten, die jeweils $^4/_{10}$ bzw. $^6/_{10}$ der bisher benutzten Hexal- und Neohexalmengen betragen würden. Die Tab. VIII enthält die solcherweise gewonnenen Daten, und zwar sind wir bei den Versuchen von 10-proz. Hexamethylentetramin- und 10-proz. Sulfosalizylsäurelösung ausgegangen.

Das Ergebnis ist außerordentlich auffallend. Mittel, deren bakterizide Kraft in zahlreichen Versuchen erprobt wurde, zerlegen wir in ihre Komponenten und stellen mit diesen in Mengenverhältnissen, die annähernd ihren eigentlichen prozentualen Verhältnissen entsprechen, Abtötungsversuche an und finden in keinem einzigen eine auch nur annähernd befriedigende bakterizide Wirkung. Für sich allein ist also keine der Komponenten, weder das Hexamethylentetramin noch die Sulfosalizylsäure, wirksam. Erst im Zusammenspiel der Kräfte erwächst offenbar die sonst stets beobachtete bakterizide Wirkung.

Wie ist nun aber der Vorgang zu deuten? Verstärken sich die beiden Komponenten gegenseitig? Oder wird die eine durch die andere gewissermaßen aktiviert?

Zur Beantwortung dieser Fragen war ein Vorversuch nötig. Schon oben wurde angedeutet, daß man seit langem als das eigentlich wirksame Moment im Hexamethylentetramin den Formaldehyd ansieht. Wie fallen die Ergebnisse aus, wenn wir einmal mit Formaldehyd allein operieren? Es ist schwer zu sagen, wieviel Formaldehyd jeweils aus dem Urotropin wirksam wird. Ich habe deshalb im Versuche den Formaldehyd in solchen Mengen eingesetzt, als ob sich der im Hexal oder Neohexal enthaltene Hexamethylentetraminanteil immer vollständig zu Formaldehyd umsetzen würde. Bei Trendelenburg (43) findet sich die Angabe, daß 1 g Hexamethylentetramin maximal 1 g Formaldehyd

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929 Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

VIII.

1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %
Hexal entsprechend: Hexamethylentetramin					Hexal entsprechend: Sulfosalizylsäure				
0,4 %	0,3 %	0,2 %	0,1 %	0,04 %	0,6 %	0,45 %	0,3 %	0,15 %	0,06 %
∞ +++	∞ +++	∞ +++	∞ +++	∞ +++	∞ + +++	∞ ++ +++	∞ ++ ∞	∞ ++ ∞	∞ ++ ∞

(genauer 1,28 g) bildet. Ich habe also statt mit 0,6 usw. Proz. Hexamethylentetramin mit 0,6 usw. Proz. Formaldehyd gearbeitet. Der Befund ist in Tab. IX eingetragen.

Tabelle IX.

Aufschwemmung in Bouillon von	Formaldehyd an Stelle des im Neohexal enthaltenen Hexamethylentetramins					Formaldehyd an Stelle des im Hexal enthaltenen Hexamethylentetramins					Kontrolle	Unbeimpfte Kontrolle
	0,6 %	0,45 %	0,3 %	0,15 %	0,06 %	0,4 %	0,3 %	0,2 %	0,1 %	0,04 %		
Coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	—
Typhusbazill.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—
Staphyl. aur.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	∞	—

Ein Versuch, den Formaldehyd in ganz denselben Mengenverhältnissen auf eine Staphylokokkenaufschwemmung im Harn wirken zu lassen, fiel genau in demselben Sinne aus. Wir sehen also, der Formaldehyd entfaltet schon seine Wirksamkeit und sogar so stark, daß wir ohne weiteres schließen dürfen, daß er es auch in den Mengen tun würde, die sich in Wirklichkeit im besten Falle aus dem im Hexal wie Neohexal enthaltenen Anteile von Hexamethylentetramin entwickeln könnten.

Die Aufgabe ist nur die, ihn aus dem Hexamethylentetramin freizumachen. Und diese Aufgabe wird offenbar von der Sulfosalizylsäure gelöst. Schon Nicolaier (13) beobachtete den Einfluß der Harnsäure und von Mineralsäuren (44) auf die Zersetzung des Hexamethylentetramins in Formaldehyd und Ammoniak. Die letzten Schlußfolgerungen aber zog Nicolaier aus diesen eigenen Befunden selbst nicht, sondern lehnte das Helmitol (anhydromethylenzitronensaures Hexamethylentetramin) in besonderer Kontroverse gegen Müller (18) ab.

Die Beobachtung, daß Säure in Verbindung mit Hexamethylentetramin bei Auflösung in überlegener Weise Formaldehyd abspaltet, konnte aber nicht wieder verloren gehen. Die Industrie griff den Gedanken weiterhin auf. War bei der Reaktionsfähigkeit des Urotropins die Zahl seiner Additionsprodukte bis dahin schon beträchtlich, so folgte nunmehr rasch ein Mittel dem anderen, das Urotropin mit Säure koppelte, in der Absicht, deren Wirkung auf intensivere Abspaltung des Formaldehyds auszunutzen. Helmitol [1902] (45), Hetralin [1903] (46), Borovertin [1906] (47), Cystopurin [1907] (48), Saliformin [1910 (49), allerdings in Mercks Bericht schon 1896], Myrmalid [1911] (50), Am-

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

photropin [1912] (51), Allotropin [1914] (52), Hexal [1912] (53), Neohexal [1913] (42).

Hexal und Neohexal bilden also nicht etwas absolut Neues. Es fragt sich nur, ob sie den Gedanken, der auch der Herstellung der übrigen Präparate zugrunde liegt, glücklicher und erfolgreicher verwirklichen.

Nachdem schon vor ihm Salkowski (54) und besonders auch amerikanische Forscher [Hanzlic u. Collins (55), Fr. Hinman (56)] die Formaldehydabspaltung als an die saure Reaktion des Lösungsmittels gebunden nachgewiesen hatten, ging Trendelenburg (57) dieser Frage noch einmal mit quantitativer Methodik nach. Seine Befunde legte er in überzeugenden Kurven nieder, aus denen der große Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Formaldehydabspaltung ohne weiteres ersichtlich ist.

Wenn Hexal und Neohexal wirklich den anderen Präparaten überlegen sind, so müssen sie auch die Wasserstoffionenkonzentration des Harnes z. B. stärker als die anderen beeinflussen. Ich habe nun den Einfluß auf den p_H-Wert des Harnes gemessen, den die einzelnen Präparate ausübten, wenn ich je 0,1 g zu 10 ccm Harn gab, wenn ich also 1-proz. Lösungen im Harn darstellte. Wie zum Teil weitgehend der p_H-Wert des Harnes umgestimmt wurde, ist ohne weiteres aus der Tab. X zu entnehmen. Die Messungen erfolgten mit der sogenannten Michaelisschen Indikatorenreihe. Und zwar durfte ich sie anfänglich mit gütiger Erlaubnis des Herrn Prof. Dr. Kionka und mit freundlicher Unterstützung des Herrn Prof. Dr. Hirsch im hiesigen Pharmakologischen Institute ausführen, bis wir uns selbst die Reihen herstellten.

Tabelle X.

	p_H		p_H
Harn	6,5	Harn + Amphotropin	5,3
„ + Urotropin	6,75	„ + Allotropin	5,2
„ + Myrmalid	6,7	„ + Saliformin	5,1
„ + Borovertin	6,6	„ + Neohexal	4,7
„ + Cystopurin	6,6	„ + Helmitol	4,6
„ + Formamint	6,5	„ + Hexal	4,5

In der Tat sind also Hexal und Neohexal nach dieser Aufstellung allen übrigen Mitteln in dieser Beziehung überlegen. Nur das Helmitol kommt ihnen annähernd gleich, steht gar zwischen ihnen beiden. Das Hexal aber ist von den beiden wieder das überlegenere, wie ja auch nach dem in ihnen obwaltenden prozentualen Verhältnissen zwischen Hexamethylentetramin und Sulfosalizylsäure (vgl. oben) gar nicht anders zu erwarten war.

Die tief greifende Wirkung des Hexals und Neohexals auf die Aziditätsverhältnisse kommt in allen Medien zur Geltung. Ich habe hierzu Messungen in Aq. dest., Normosal, Harn, Bouillon, Serum angestellt. Die Versuche wurden ein wenig anders angeordnet als die oben tabellarisch wiedergegebenen, und zwar insofern, als ich zum Teil verschiedene Mengen Hexal und Neohexal zu je 6 ccm des betreffenden Mediums gab, bei solchen mit starker Eigenfarbe wie z. B. Serum, zu 1,0 ccm + 5,0 ccm NaCl. Dabei erhielt ich folgende Werte:

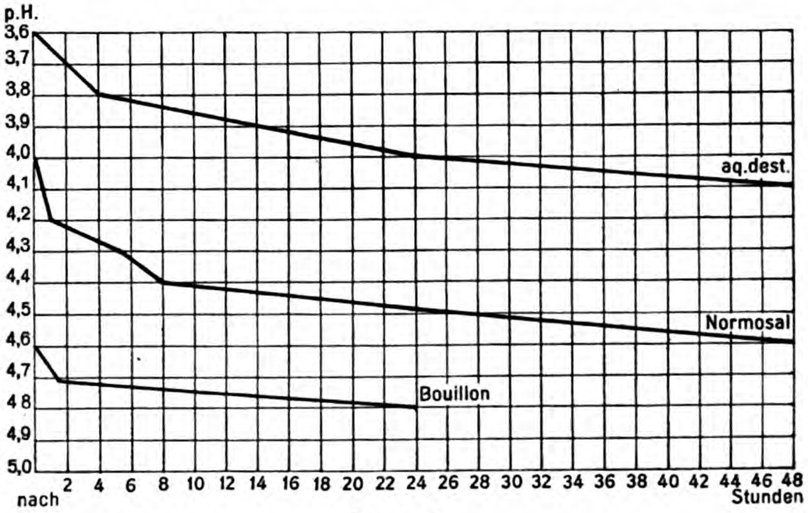
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XI.

Aq. dest.	p_H	Normosal	p_H	Bouillon	p_H	Serum	p_H
Ausgangswert		Ausgangswert	7,2	Ausgangswert	7,0	Ausgangswert	7,8
nach Zusatz von		nach Zusatz von		nach Zusatz von		nach Zusatz von	
0,1 Neohexal	3,6	0,1 Neohexal	4,0	0,1 Neohexal	4,6	0,002 Neohexal	7,6
		0,025 Hexal	2,8	0,05 Hexal	3,6	0,05 „	4,8
						0,002 Hexal	7,5
						0,025 „	5,3

Bedeutungsvoll ist besonders die Wirkung auf den p_H-Wert des Serums. Es sind ja natürlich nur Reagenzglasversuche, die uns von dem sofort einsetzenden, außerordentlich fein ineinander greifenden Spiel der Regulationsvorrichtungen des lebenden Organismus, der Lungen und Nieren, auch nicht annähernd eine Vorstellung geben können. Aber wir bekommen doch solcherweise wenigstens einen Begriff von den Aufgaben, vor die der Organismus bei intravenöser Injektion der Mittel, wie sie z. B. Coglievina (58) bei Fleckfieber empfahl, gestellt wird.

Sehr bald nach Auflösung von Hexal und Neohexal in den betreffenden Flüssigkeiten sehen wir den p_H-Wert sich wieder mehr und mehr nach der alkalischen Seite zu verschieben. Die Erklärung des Vorganges liegt in dem Zerfall des Hexamethylentetramins in seine beiden Komponenten, den Formaldehyd und das Ammoniak, und zwar wird dies Zerfallen gerade durch die Säurewirkung bedingt. Das sich bildende Ammoniak gewinnt nun seinerseits Einfluß auf den p_H-Wert und verschiebt ihn im umgekehrten Sinne. Wenn wir Stunden und p_H-Werte in ein Koordinatensystem eintragen, so bekommen wir bei der oben ausgeführten Versuchsanordnung für die Wirksamkeit des Neohexals folgende Kurve 1:



Kurve 1.

Wir sehen also den p_H-Wert sich anfangs mehr oder weniger rasch, später gleichmäßig langsam nach dem alkalischen Pol zu verschieben. Diese mehr oder weniger rasche Formaldehydentwicklung unter dem Einfluß der Sulfosalizylsäure mußte sich übrigens auch im bakteriziden Versuch verfolgen lassen. Es war anzunehmen, daß die keimtötende Wirkung mit der Zeit zunehmen müßte. Hierzu wurde ein Versuch an-

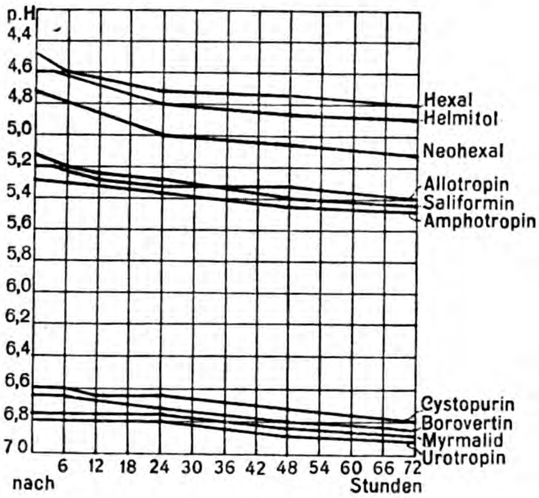
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gesetzt, der eine Hexal-(Neohexal-)Lösung, die unmittelbar vor dem Versuch angesetzt wurde, mit einer $2^1/_2$ Std. und einer 5 Tage alten Lösung vergleichen sollte. Als Testflüssigkeit wurde eine Coli-Aufschwemmung in Bouillon benutzt. Ueber den Ausfall des Vergleiches gibt uns Tab. XII Auskunft, und zwar sehen wir in der Tat eine deut-

Tabelle XII.

Lösung angesetzt	Neohexal					Hexal					Kontrolle	Unbeimpfte Kontrolle
	0,5 %	0,4 %	0,3 %	0,2 %	0,1 %	0,5 %	0,4 %	0,3 %	0,2 %	0,1 %		
unmittelbar vor dem Zupipettieren	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	∞	—
$2^1/_2$ Std. vor dem Versuch	+	++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++		
5 Tage vor dem Versuch	—	++	++	++	+++	—	+	+	++	++		

liche Zunahme der bakteriziden Kraft, entsprechend der Zunahme des Alters der Hexal(Neohexal)lösung. Der Status nascendi, der sonst, z. B. beim Wasserstoffsuperoxyd, eine so große Rolle spielt, ist hier also vollkommen bedeutungslos. In diesem Versuch bekam ich auch die nachträgliche Aufklärung für Mißerfolge, die ich bei meinen allerersten bakteriziden Versuchen mit dem Hexal und Neohexal erlitten hatte. Bei ihnen war ich nämlich so vorgegangen, daß ich die Gewichtsmengen Hexal (Neohexal), die ich zur Herstellung einer 1-, 0,75- usw. proz. Lösung in den Reagenzgläschen brauchte, mit der analytischen Wage bestimmte und dann den Bakterienaufschwemmungen in Substanz zusetzte. Und fernerhin dürfte in diesem Versuche eine weitere Erklärung für die schon bei Tab. I einmal erörterte Beobachtung zu finden sein, daß nämlich bei wiederholten Bestimmungen die bakterizide Kraft des Hexals (Neohexals) einzelnen Bakterienarten gegenüber um etwa 0,1 Proz.



Kurve 2.

Tabelle

Aufschwemmung in Bouillon von	Helmitol					Saliformin					Allotropin					Amphotropin				
	1,0 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1,0 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1,0 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1,0 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %
Coli	—	—	—	∞	∞	—	—	++	∞	∞	—	—	∞	∞	∞	—	—	—	∞	∞
Typhusbazillus	—	—	—	+	∞	—	—	∞	∞	∞	—	—	++	++	∞	—	—	—	++	∞
Staphyl. aureus	—	—	—	++	∞	—	—	++	∞	∞	—	—	+	++	∞	—	—	—	++	∞

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

schwanken kann. Es würde sich also beim Zustandekommen dieser Schwankungen nicht nur um auch sonst beobachtete tägliche Resistenzverschiebungen bei den Bakterienstämmen, sondern auch um Zustandsänderungen in den Lösungen selbst handeln. Möglich ist ferner, daß sich beide Momente in der Wirkung kombinieren. Bei der Zunahme der bakteriziden Kraft mit dem Alter der Lösung spielt aber wohl nicht nur die Formaldehydentwicklung unter dem Einfluß der Säurewirkung allein eine Rolle, nebenher läuft auch noch die Spaltung des polymeren in einfachen Formaldehyd, die bei alternden Formaldehydlösungen bekannt ist [Hailer] (19), und die die schwächere Wirksamkeit frisch hergestellter Lösungen erklärt.

Was für Hexal und Neohexal gilt, mußte auch für die übrigen gleichsinnig hergestellten Präparate zutreffen. In der Tat finden wir bei allen die gleiche Erscheinung. Die Ergebnisse lassen sich auch hier graphisch wiedergeben (Kurve 2).

Die Kurve stellt sehr instruktiv die, wenn ich so sagen darf, Höhenlage der Säurewirkung des jeweiligen Mittels im p_H-System dar. Wir sehen, wie die mehr im alkalischen Bereich liegenden Mittel eine viel gestrecktere Wirkungskurve haben. Die säurekräftigeren dagegen zeigen die anfänglich schärfere, später sanftere Umbiegung ihrer p_H-Linie. Mit anderen Worten, je kräftiger die Säurewirkung eines Mittels ist, um so mehr und stärker wird Formaldehyd und Ammoniak abgespalten.

Mit dieser Beobachtung müßte auch die bakterizide Wirkung der einzelnen Mittel übereinstimmen. Ich habe hierzu vergleichende Untersuchungen angestellt. Die angewandte Technik war die gleiche wie bei den Abtötungsversuchen mit Hexal und Neohexal. Geprüft wurden alle Mittel, die mir von den Fabriken zur Verfügung gestellt wurden. Die meisten gingen auf meine Bitte bereitwilligst ein, mit Ausnahme des Hetralins, für das aber größere experimentelle Untersuchungen vorliegen (20). Die bei den Vergleichsuntersuchungen erzielten Ergebnisse mögen in Tabelle XIII Platz finden, wobei allerdings zu bemerken ist, daß Formamint und Cystopurin durch Beimischung von Milchzucker den anderen Präparaten gegenüber etwas benachteiligt sind.

In der Tabelle sind die Mittel nach ihrem p_H-Wert geordnet: Je weiter rechts, um so höher p_H, um so weniger sauer also die Lösung. Wenn wir oben auseinandersetzten, daß die Säurewirkung und die bakterizide Kraft in ganz bestimmter Relation stehen müßten, so finden wir diese Annahme durch die Tabelle durchaus bestätigt. Je weiter links, um so niedriger p_H, um so größer also die Säurewirkung, um so nachhaltiger auch die bakterizide Kraft. Helmitol und Amphotropin erreichen Hexal und Neohexal, wie ein Vergleich mit Tab. II zeigt, durchaus. Als nur wenig schwächer erwiesen sich Saliformin und Allotropin, obwohl ihr p_H-Wert niedriger, wenn auch unbedeutend niedriger

XIII.

Formamint					Cystopurin					Borovertin					Myrmalid					Kontrolle
1,0 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1,0 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1,0 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	1 %	0,75 %	0,5 %	0,25 %	0,1 %	
∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	+	++	++	++	∞	+++	+++	∞	∞	∞	∞
∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist als der des Amphotropins. Das Allotropin lag mir nur in Tabletten vor, nicht, wie ich von der Fabrik erbeten hatte, in Pulverform. Es enthielt also infolge der Zumischung von tablettenfähigen Substanzen auf die gleichen Gewichtsmengen doch weniger wirksame Substanzen als die übrigen Mittel. Das könnte zur Klärung sicherlich beitragen. Es ist aber andererseits klar, daß die bakterizide Wirkung nicht allein vom Säuregehalt abhängig sein kann. Gleich wichtig ist durchaus der Gehalt an Urotropin. Wenn die Säure ihre wesentlichste Wirkung, die Entwicklung des Formaldehyds entfalten können soll, so muß auch etwas da sein, woraus der Formaldehyd frei gemacht werden kann.

Wir können uns die vorliegenden Verhältnisse ohne weiteres anschaulich machen, indem wir die diesbezüglichen Zahlen in eine Tab. XIV

Tabelle XIV.

Gehalt an Hexamethylentetramin		Säure	Dissoziationskonstante	
Myrmalid	83,0 Proz.	17,0 Proz.	Phosphorsäure	$9 \cdot 10^{-3}$
Hexal	60,9 „	39,1 „	Salizylsäure	$1{,}06 \cdot 10^{-3}$
Allotropin	60,0 „	40,0 „	Ameisensäure	$2{,}14 \cdot 10^{-4}$
Amphotropin	58,0 „	42,0 „	Kamphorsäure	$2{,}29 \cdot 10^{-5}$
Neohexal	56,7 „	43,3 „	Essigsäure	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
Borovertin	51,0 „	49,0 „	Zitronensäure	$0{,}7 \cdot 10^{-7}$
Saliformin	50,0 „	50,0 „	Borsäure	$6{,}6 \cdot 10^{-10}$
Cystopurin	50,0 „	50,0 „		
Helmitol	40,0 „	60,0 „		

eintragen und einmal die Mittel nach ihrem Urotropingehalt und das andere Mal die entsprechenden Säuren nach ihrer Dissoziationskonstante anordnen.

Für den prozentualen Urotropingehalt finden sich schon bei Boruttau (60) ganz entsprechende Zahlen. Die Werte für die Dissoziationskonstanten wurden den „Tabellen" von Landolt-Börnstein-Roth entnommen. Die jeweilige Säurewirkung erwächst natürlich aus dem Zusammenspiel von Dissoziationskonstante und Konzentration. Beides können wir aus der Tabelle ablesen. Selbstverständlich muß man bei alledem erwägen, wie stark bei der bakteriziden Wirkung der Mittel der Säuregehalt als solcher ohne seine Befähigung zur Formaldehydspaltung mitspricht. Bei Michaelis (61) z. B. findet sich die Angabe, daß eine [H·] von 2.10^{-5} (entsprechend p_H 4,7) aufwärts Coli sicher tötet, Typhusbazillen eine solche von 1.10^{-5} (entsprechend p_H 5,0). Auch sonst ist der Einfluß von Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration vielfach bearbeitet. So zeigte Scheer (62) die Wirkung von p_H 4,6 und p_H 9,4 als Gegenpole auf das Bacterium coli. In diesem Zusammenhange erinnere ich auch an Seligmanns (63) Untersuchungen über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration im Desinfektionsversuch. Wenn wir die Zahlen vergleichen, die Dernby und Näslund (64) geben, so sehen wir die Keime doch in ziemlich breiten p_H-Zonen gedeihen, wobei ihr Wachstumsoptimum freilich in etwas engeren Grenzen liegt. Für Bact. coli würde z. B. die Zone p_H 4,5—9,0 (Optimum 6,6—7,6), für Bac. typhi p_H 4,5—8,0 (Optimum 6,5—7,2) betragen. Dernby und Näslund müssen aber nachlassen, daß Wachstum auch außerhalb dieser Grenzen eintreten kann. Nach Tab. X würden wir mit Hexal, in einer Dose von 0,1 g

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu 10 ccm Harn gegeben, gerade p_H 4,5 erreichen, mit anderen Worten: die von Dernby und Näslund für Coli wie für Typhusbazillen angegebene unterste Grenze. Mit allen anderen Mitteln wird diese, wie Tab. X und Kurve 2 ausweisen, nicht erreicht. Bei Urotropin, Myrmalid, Borovertin, Cystopurin, Formamint würden wir uns im Gegenteil durchaus im Bereiche des Wachstumsoptimums bewegen. Es ist eben nicht die Säurewirkung als solche, in der die bakterizide Kraft des Mittels liegt. Sonst hätten wir ja auch schon in Tab. VIII ganz andere Befunde haben müssen. Die bakterizide Wirksamkeit kann nur in der durch die Säure ausgelösten Formaldehydabspaltung ruhen.

Daß der Formaldehyd der Wirkungsträger bei der Urotropinmedikation ist, wurde schon von Nicolaier erkannt. Seitdem ist diese Erklärung der Urotropinwirkung von den meisten Forschern übernommen, und es sind zu ihrer Begründung auch allerlei experimentelle Befunde zusammengetragen worden. Hanzlic und Collins (55), deren Originalarbeit mir leider nicht zugänglich war, „konnten (nach Trendelenburg (57) zitiert) in ausführlichen Versuchsreihen zeigen, daß das Hexalmethylentetramin selbst in mehrprozentiger Lösung tatsächlich nicht keimtötend wirkt, solange nur durch Alkalizusatz die Formaldehydabspaltung verhindert wird, und daß diese an die saure Reaktion des Lösungsmittels gebunden ist". Es hat aber immer eine Reihe von Autoren gegeben, die auch dem Urotropin als solchem bakterizide Wirkung zugeschrieben wissen möchten. Solche Ueberlegungen gehen gewöhnlich aus von Beobachtungen, die schon Cohn (65) z. B. und Grosglik (66) machten, nämlich, daß es zuweilen schwer fällt, selbst mit der so empfindlichen Jorissenschen Probe freien Formaldehyd nachzuweisen. Goetzl und Salus (67) beimpften Platten strichförmig. Die beiden vertikal aufeinander stehenden mittleren Striche wurden mit fein verteiltem Urotropinpulver bestreut und blieben bei sonst üppigem Wachstum leer. Dabei rechnen Goetzl und Salus damit, daß das Urotropin unzersetzt als solches gewirkt habe, was aber zweifelhaft sein dürfte. Auf einer Platte zeigt die Oberfläche immer eine gewisse Feuchtigkeit, in der sich das Urotropin unter allen Umständen zersetzt. Selbst wenn wir in der Oberflächenfeuchtigkeit einen p_H-Wert voraussetzen, der im alkalischen Bereich liegt, so würde doch, wie Höst (68) und Trendelenburg (57) zeigen konnten, eine gewisse Menge Formaldehyd abgespalten. Und diese würde dann bei der geringen oberflächlichen Feuchtigkeit in sogar hohem Prozentsatz in dieser enthalten sein müssen. Ebensowenig dürften Ohiras (69) experimentell gestützte Beweise absolut schlüssig sein. Neuerdings hat Crohn (70) erst wieder unter dem Eindruck der versagenden Formaldehydreaktionen dessen Abspaltung geleugnet. Daß die Formaldehydreaktionen zum Teil versagen können, muß zugegeben werden. Wie wenig wir bislang noch eine exakte quantitative Methode zu dessen Bestimmung haben, hat Voit (70) gezeigt. Gleichwohl, wenn die Formaldehydreaktionen versagen, so muß das vielmehr auf deren Unzulänglichkeit als auf fehlenden Formaldehyd bezogen werden. Schon Nicolaier (44) hat einmal als den besten Weg zum Nachweis freien Formaldehyds den des bakteriziden Versuches bezeichnet und damit seinen Nachweis aus dem rein chemischen mehr auf das biologische Gebiet verschoben. Wenn nicht auch sonst in der Literatur Beweismaterial für die Formaldehydabspaltung und die dadurch ausgelöste bakterizide Wirkung, speziell in den schönen Trendelenburgschen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kurven und den Hanzlic-Collinsschen Befunden niedergelegt wäre, so müßten meine in Tab. VIII und IX wiedergegebenen Versuche bei der Entscheidung der Frage, ob bakterizide Wirkung durch Urotropin an sich oder abgespaltenen Formaldehyd, die Wagschale zugunsten der letzteren beeinflussen.

Die Tab. IX bringt auch gleichzeitig den bei allen Desinfektionsversuchen absolut nötigen Vergleich mit einem Desinfiziens von bekannter Wirkung, hier also mit dem Formaldehyd. Wir sehen, daß die Bakterienstämme, die wir zu unseren Versuchen mit Hexal und Neohexal benutzten, auf so erprobte Mittel wie den Formaldehyd gerade außerordentlich fein reagieren. Ein weiterer Vergleich sollte durch Versuch an den gleichen Stämmen mit Sublimat gewonnen werden. Auf dieses sprachen sie ganz besonders an. Schon in 1 Std. waren Bact. coli, Typhusbazillen, Staphylococcus aureus und Diphtheriebazillen selbst durch eine Verdünnung von 1:1000 abgetötet. Das entspricht aber durchaus Befunden älterer Arbeiten, wie sie Laubenheimer (72) einmal zusammengestellt hat. Es sind also, was zu beweisen war und für die Einschätzung der bakteriziden Wirkung des Hexals und Neohexals so außerordentlich wichtig ist, die verwendeten Bakterienstämme von durchaus üblicher Resistenz gewesen.

Eine weitere kleine Unterfrage war noch zu beantworten. Waren bei der von mir gewählten Versuchsanordnung die vakzineartigen Aufschwemmungen nicht doch zu dünn gewesen, so daß wir fälschlich auf eine höhere bakterizide Kraft des Hexals und Neohexals geschlossen hätten, als sie überhaupt in Wirklichkeit vorliegt? Reichenbach (78) hat erst kürzlich wieder auf den Einfluß der Dichte der Aufschwemmung auf den Desinfektionsversuch hingewiesen. Für den Formaldehyd speziell ist Abel (74) diesen Dingen mit besonderen Versuchen nachgegangen. Ich habe mir zu dem gleichen Endzweck Aufschwemmungen von Staphylococcus aur. und Typhusbazillen hergestellt, die so trübe waren, daß von einer Durchsichtigkeit überhaupt nicht mehr die Rede sein konnte, und daß man sicher sein durfte, daß es Hexal und Neohexal praktisch im kranken Körper niemals mit auch nur annähernd gleich dichten Bakterienaufschwemmungen zu tun haben würden. Die bakterizide Wirkung entsprach den bereits tabellarisch niedergelegten Befunden absolut. Die beiden Mittel genügen also im Rahmen der ihnen einmal innewohnenden bakteriziden Befähigung allen praktisch an sie zu stellenden Anforderungen.

Ein fast sofort wirkendes Desinfiziens etwa wie das Sublimat ist der Formaldehyd zweifellos nicht. Er braucht zur Entfaltung seiner bakteriziden Kraft eine immerhin nicht unbeträchtliche Zeit. Das dürfen wir unter sonst gleichen Bedingungen auch für Hexal und Neohexal voraussetzen. Aufschwemmungen von Typhusbazillen in Bouillon wurden zu 0,5—0,1 Proz. mit Hexal und Neohexal versetzt und nach bestimmten Zeitabständen abgeimpft. Das Weitere führt am bequemsten Tab. XV aus.

Wiederholt angestellt, gibt der Versuch durchaus dieselben Werte. Wir sehen also, daß Hexal und Neohexal sogar sehr langsam ihre bakterizide Kraft entwickeln. Erst nach 10 Std. zeigen sich die ersten Anzeichen bakterizider Wirkung. Hierin ist ihnen reiner Formaldehyd immerhin überlegen. So tötet 0,75-proz. wässeriger Formaldehyd Paratyphus B an Granaten in 60', an Battist in 150' [Hailer (75)]. Aus der langsamen Wirkung würde für unser therapeutisches Handeln zu schließen sein, daß wir nicht hoffen dürfen, mit einzelnen großen Gaben

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XV.

		Neohexal					Hexal					Kontrolle	Ueberimpfte Kontrolle
		0,5 %	0,4 %	0,3 %	0,2 %	0,1 %	0,5 %	0,4 %	0,3 %	0,2 %	0,1 %		
½	Staph. aur.	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	—
	Coli	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	—
1	Staph. aur.	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	.	.
	Coli	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	.	.
2	Staph. aur.	++	++	++	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	.	.
	Coli	++	+++	+++	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	.	.
4	Staph. aur.	++	++	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	.	.
	Coli	+++	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	.	.
6	Staph. aur.	++	++	++	∞	∞	++	+++	+++	+++	+++	.	.
	Coli	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.
10	Staph. aur.	+	+	+	++	∞	—	+	++	++	∞	.	.
	Coli	—	+	++	++	++	+	+	++	++	+++	.	.
24	Staph. aur.	—	—	—	+	+++	—	—	+	+	+++	.	.
	Coli	—	—	—	++	+++	—	—	—	++	+++	.	.

zum Ziele zu kommen, sondern gezwungen sein werden, den Organismus durch dauernde gleichmäßige Darreichung unter stetig fortschreitendem Formaldehydeinfluß zu halten. Was wir hier für Hexal- und Neohexalmedikation als Forderung aufstellten, gilt natürlich ceteris paribus für alle Formaldehyd abspaltenden Medikamente. Bei der bloßen Betrachtung der Reagiergläschen fiel aber, und insofern geben die in der Tabelle niedergelegten Befunde die Beobachtungen nur unvollkommen wieder, schon nach 4 Std. ein deutlicher Unterschied zwischen dem beimpften Kontrollröhrchen und den übrigen auf, so zwar, daß es bedeutend trüber als diese war. Nach 10 Std. wurde der gleiche, wenn auch nicht so scharf ausgesprochene Unterschied auch zwischen den Röhrchen mit 0,5 u. 0,4 Proz. Hexal (Neohexal) und denen mit 0,2 bis 0,1 Proz., die ihrerseits nun wieder trüber als die ersteren waren, deutlich. Die Entwicklungshemmung spricht sich also schon nach 4 Std. und damit viel früher als die eigentliche bakterizide Wirkung aus.

Wenn wir einmal die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen kurz zusammenfassen wollen, so fanden wir:

1) Hexal und Neohexal zeigen in Reagenzglasversuchen eine mittlere bakterizide Wirkung, die aber bei einer Aufschwemmung in phys. Kochsalzlösung schon bei einer Verdünnung 0,1 : 100 versagt, und die in eiweißhaltigen Medien noch schwächer ist.

2) Diese Abschwächung beruht auf chemischer Bindung der beiden wirksamen Komponenten, des Formaldehyds und der Sulfosalizylsäure, und zwar bindet sich diese rascher an die Eiweißkörper als jener.

3) Eine spezifische Wirkung gegen eine der geprüften Bakterienarten ließ sich nicht feststellen.

4) Träger der bakteriziden Wirkung ist der Formaldehyd. Seine Abspaltung erfolgt aus dem Hexalmethylentetramin unter besonderem Einfluß der Sulfosalizylsäure.

5) Diesen Vorgang haben Hexal und Neohexal mit verschiedenen anderen Urotropinpräparaten gemeinsam, die sie aber im allgemeinen hinsichtlich der Säurewirkung und ebenso auch der bakteriziden Kraft übetreffen.

6) Diese kommt freilich erst nach Stunden zur vollen Auswirkung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

1) Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1888. — 2) Compt. rend. l'Acad. d. Sc. T. 144. 1892. p. 1278. — 3) Ther. d. Gegenw. 11. 1904. — 4) ebenda. 11. 1904. — 5) Journ. Massach. Assoc. of Boards of Health. 1899. — 6) Johns Hopkins Hosp. Bull. 1909. April. — 7) Wien. klin. Wochenschr. 1912. 4. — 8) ebenda. 1912. 4; 1916. 32. — 9) ebenda. 1916. 47. — 10) Med. Kl. 1915. 49. — 11) Fortschr. d. M. 17. 1914. — 12) Med. Klin. 42. 1914. — 13) Klin. Wochenschr. 8. 1922; Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 1327. — 13a) Ztschr. f. klin. Med. 1899. — 14) Korrbl. f. schweiz. Aerzte. 1901/02. — 15) Dissert. Basel. 1901. — 16) Dissert. Breslau. 1902. — 17) Wien. klin. Wochenschr. 1902. 17—18. — 18) Dtsch. Aerzteztg. 1903. 8. — 19) Diss. Breslau. 1903. — 20) Diss. Gießen. 1906. — 21) Med. Klin. 1908. 10. — 22) Ztschr. f. gyn. Urol. 1911. 1. — 23) Diss. Würzburg. 1892. — 24) Korrbl. f. schw. Aerzte. 1907. 11. — 25) München. med. Wochenschr. 1912. 38. — 26) Klin. Wochenschr. 1912. 38. — 27) Gutachten vom 11. Jan. 1915. n. G. N. 3035. — 28) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 7—8. — 29) Dtsch. Ztschr. f. Chir. 1922. 168. — 30) „Die Desinfektion" in Weyls Handb. d. Hyg. — 31) Berl. klin. Wochenschr. 1889. 36—37; ebenda. 1890. 11. — 32) Biochem. Ztschr. 125. 69. 1921. — 33) Arb. a. d. Inst. f. Inf. Bern. 2. 29. 1918. — 34) Arb. a. d. Reichsges. 52. 1920. 253 u. 670. — 35) Arch. f. Hyg. Bd. 90. 1922. 239. — 36) Biochem. Ztschr. 133. 1—3. — 37) Arch. f. d. ges. Phys. 189. 311—322. — 38) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1—3. — 39) Ztschr. f. Immunitätsf. 1921. 33. — 40) Dtsch. med. Wochenschr. 49, 6. 190. — 41) Ztschr. f. Immunitätsf. 36. 2—3. — 42) Riedel-Arch. 1913. 10. — 43) Münch. med. Wocheuschr. 1919. 24. — 44) Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 81. 1904. 1—2. — 45) Rosenthal, Ther. d. G. 1902. 12. — 46) Ledermann, Derm. Ztbl. 1903. 12. — 47) Markiewicz, Berl. kl. Wochenschr. 1906. 49. — 48) Bergel, Dtsch. med. Wochenschr. 1907. 2. — 49) Eichler, Ther. d. Gegenw. 1910. 4. — 50) Casper u. Citron, Ztschr. f. Urol. 1911. 4. — 51) Fischer, Fol. Urol. 1912. 3. — 52) Bachem, Med. Kl. 1914. 41. — 53) Boss, Dtsch. med. Wochenschrift. 1912. 36. — 54) Biochem. Ztschr. 87. — 55) Arch. of int. Med. 1913. 12. — 56) ebenda. 1914. 13. — 57) Biochem. Ztschr. 95. u. Münch. med. Wochenschr. 1919. 24. — 58) Riedel-Arch. 1917. — 59) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1—3. — 60) Ztschr. f. exp. Path. u. Ther. XVI, 3. — 61) „Die Wasserstoffionenkonzentration". (J. Springer) 1914. — 62) Biochem. Ztschr. 1922. 130. — 63) Berlin. Ges. f. Mikrobiol. Sitzungsber. v. 13. Nov. 1922. — 64) Ztschr. f. Immf. Orig. 35. 5—6. — 65) Berlin. klin. Wochenschr. 1897. 4/5. — 66) Ctbl. f. Kr. d. Harn- u. Sexualorg. 1900. 225. — 67) Ztschr. f. klin. Med. 45. 5—6. 1902. — 68) ebenda. 81. 272. 1915. — 69) Centralbl. f. Bakt. I. Orig. 1921. 85. 63. — 70) Med. Kl. 1923. 19. — 71) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. 95. 1—2. — 72) „Allg. Bakt. u. Sterilisationslehre". Jena (G. Fischer) 1915. — 73) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 89. 1—3. — 74) ebenda. Bd. 12 1894. 41. — 75) Biochem. Ztschr. 125. 1921. 69.

Nachdruck verboten.

Die Rolle der Haut bei der Bildung von Antikörpern.

1. Agglutinine und Bakteriolysine.

[Aus dem Hygieneinstitut der Universität Greifswald (stellv. Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von **Carl Neuhaus** und **Carl Prausnitz.**

Als Bildungsstätte der Bakteriolysine und Agglutinine kommen nach den Untersuchungen von R. Pfeiffer und Marx Milz und Knochenmark, daneben die Lymphdrüsen und vielleicht die Lungen in Betracht. Im Blutserum erscheinen die Antikörper erst später als in den genannten Organen; es ist also anzunehmen, daß sie von diesen Organen her in das Serum abgesondert werden. Negative Ergebnisse lieferten beim Kaninchen Leber, Galle, Niere, Nebenniere, Speicheldrüse, Muskulatur, Thymus, Ovarien, Gehirn und Rückenmark. Aehnliche Ergebnisse erhielt mit Typhusbazillen A. Wassermann und bei ähnlicher Technik Deutsch.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Frage, unter welchen Umständen eine örtliche Immunkörperbildung statt hat, ist noch keineswegs genügend geklärt. Die grundlegenden Untersuchungen gehen auf P. Römer zurück, der nach Einträufelung von Abrin in die Konjunktiva eine ausgesprochen erhöhte Immunität der Konjunktiva des behandelten Auges gegenüber dem unbehandelten fand. Von besonderem Interesse ist der Versuch von A. Wassermann und Citron, ähnliche Befunde örtlicher Immunkörperbildung bei intrapleuraler oder intraperitonealer Injektion zu erzielen; doch konnte die von ihnen erhobene Feststellung, daß so erzielte Exsudate wirksamer wären als das Serum, in einer umfangreichen Nachprüfung von Paetsch nicht bestätigt werden. Daß lokale Prozesse unter Umständen eine gewisse Rolle spielen können, scheint aus den allerdings nicht ohne weiteres vergleichbaren Versuchen von C. Prausnitz und Küstner hervorzugehen: Bei Untersuchungen an einer für Fischeiweiß hoch empfindlichen Person wurden zahlreiche intrakutane Injektionen am linken Vorderarm gemacht, wobei es zu einer ausgesprochenen, aber vorübergehenden örtlichen Desensibilisierung kam. Daß es nicht immer zu einem lokal verschiedenen Ansprechen des Gewebes zu kommen braucht, zeigen jedoch die zahlreichen Versuche mit Polleneiweiß an heufieberempfindlichen Personen, welche trotz jahrelanger Fortführung bisher keine ausgesprochene Desensibilisierung (oder Immunisierung?) hervorgerufen haben.

Eine andere Frage, die in letzter Zeit zunehmendes Interesse beansprucht, ist die, ob bei der allgemeinen Immunisierung eine besondere Rolle der Haut als Bildner der Immunkörper zukommt. Bogendörfer entnahm Personen mit negativer Schickreaktion 2—3 g Haut, die er nach der Entfernung der Subkutis möglichst fein zerkleinerte, mit Kochsalzlösung auswusch und auspreßte; der Rückstand neutralisierte Diphtherietoxin im Schickversuch bei diphtherietoxin-empfindlichen Menschen und beim Meerschweinchen. — Diese neutralisierende Wirkung gegenüber Diphtherietoxin fehlte dagegen in der Haut von Personen mit positiver Schickreaktion. Soweit aus dieser summarischen Arbeit und ohne Kenntnis der eingehenden Protokolle geschlossen werden kann, ist es also wahrscheinlich, daß bei Personen, deren Serum Diphtherieantitoxin enthält, die Haut selber Antitoxin speichert. Es liegt nicht ganz fern zu vermuten, daß also hier die Haut selber an der Antitoxinbildung aktiv beteiligt ist. Daß ähnliche Verhältnisse nicht ganz selten eintreten können, zeigen die im Anschluß an solche Beobachtungen Bessaus angestellten Versuche von Köhler und Heilmann: nach intrakutaner Sensibilisierung mit artfremdem Serum tritt beim Menschen durchschnittlich eine stärkere Ueberempfindlichkeit der gesamten Haut auf als bei intravenöser Sensibilisierung.

Um der Frage nach der Entstehungsmöglichkeit von Antikörpern in der Haut systematisch näher zu kommen, haben wir als ersten Schritt festzustellen gesucht, ob nach intravenöser Injektion eines Antigens die Immunkörper in der Haut früher auftreten als im Serum.

Versuchstechnik.

2 Kaninchen von etwa 2500 g Gewicht erhielten am 30. Nov. 23 intravenös je $^1/_{100}$ Oese einer 24-stünd. Agarkultur von Vibrio El Tor nach Abtötung bei 60°. Es wurden Blut- und Hautproben bei beiden Tieren entnommen:

1) 1 Woche vor Beginn der Immunisierung,
2) am 3. Tage nach der Immunisierung,
3) „ 4. „ „ „ „
4) „ 5. „ „ „ „

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Entnahme der Haut erfolgte an den Flanken, abwechselnd links und rechts, nach Rasieren unter aseptischen Kautelen in leichter Aethernarkose; durch sehr sorgfältiges Arbeiten mit tadellos scharfen Messern gelang es, die Haut fast ohne Verletzung der Blutgefäße zu gewinnen, was unseres Erachtens für die vorliegende Frage von besonderer Wichtigkeit ist. Es wurde jedesmal ein etwa 3,5 × 1 cm großes Läppchen entfernt, worauf die Wunde sorgfältig vernäht wurde; sie verheilte stets reaktionslos und rasch. Die Blutproben wurden teils durch Herzpunktion, teils von der Vene aus in Mengen von 4—5 ccm entnommen. Die Tiere vertrugen die Behandlung anstandslos, doch ging das eine Kaninchen nach der letzten Hautentnahme an Narkosentod ein. Sein Sektionsbefund bot keine Besonderheiten.

Die entnommenen Hautstücke, welche nach sorgfältiger Entfernung von Fett und Subkutis etwa 0,17 g wogen, wurden kurz in physiol. Kochsalzlösung gewaschen, mit sterilen Messern zerkleinert und mit sterilem Glaspulver im Achatmörser unter allmählichem Zusatz von 2 ccm physiol. Kochsalzlösung aufs feinste zermahlen. In dem resultierenden Brei waren mikroskopisch, auch auf Zusatz von etwas Loefflerschem Methylenblau, keine intakten Zellen zu erkennen. Der Brei blieb über Nacht im Eisschrank stehen, wonach die aus der Haut ausgewaschene Flüssigkeit (der „Hautextrakt") abzentrifugiert wurde.

Die vergleichende Prüfung der je 4 Serum- und Hautextraktproben von jedem der beiden Kaninchen wurde am 1. oder 2. Tage nach der Entnahme im Pfeifferschen Versuch an Meerschweinchen von 185 bis 210 g ausgeführt. Das Ergebnis der Prüfung zeigt die nachstehende Tab. I.

Tabelle I.
Bakteriolytischer Titer (Pfeifferscher Versuch).

	Kaninchen N 7		Kaninchen N 8	
	Serum	Hautextrakt	Serum	Hautextrakt
1) Vor der Behandlung	0,3	0,4	> 0,2	> 0,3 [1]
2) 3 Tage nach der Behandlung	> 0,1	> 0,3	> 0,1	> 0,3
3) 4 „ „ „ „	< 0,1	> 0,3	< 0,1	> 0,3
4) 5 „ „ „ „	0,005	> 0,3	< 0,005	0,2
5) 5 „ „ „ „	—	Hautrückstand > 0,2	—	Hautrückstand 0,2
6) 5 „ „ „ „	mit Glaspulver vorbehandelt. Serum > 0,005 < 0,0075	—	—	—

Aus dieser Versuchsreihe (Nr. 1—4) ergibt sich, daß die Sera den normalen raschen Anstieg des bakteriolytischen Titers aufwiesen. Die Hautextrakte dagegen zeigten nur eine ganz geringfügige und dem Serumanstieg nachfolgende Werterhöhung; diese geringe Erhöhung ist, da sie in der Größenordnung höchstens $^1/_{100}$ so stark ist wie die des Serums, ungezwungen durch Verunreinigung der Hautstücke mit Blutspuren während der Operation zu erklären.

Nun war es noch denkbar, daß ähnlich wie in den Versuchen von Bogendörfer die Antikörper trotz der gründlichen Zertrümmerung der Zellen nicht in die Lösung übergegangen waren, sondern von den Zelltrümmern festgehalten wurden. Um auch diese Möglichkeit zu klären,

1) Größere Flüssigkeitsmengen konnten nicht geprüft werden, doch ist es wahrscheinlich, daß der Titer wie bei Nr. 7 um 0,4 ccm liegen dürfte.

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

wurden die gesamten Zentrifugenrückstände der Hautproben des 5. Tages von jedem von beiden Kaninchen mit je 1 ccm physiol. Kochsalzlösung versetzt und kräftig umgerührt. Um eine störende Reizung der Bauchhöhle durch die Glastrümmer zu vermeiden, suchten wir diese von den spezifisch leichteren Gewebstrümmern durch 1 Min. langes Zentrifugieren zu trennen. Die so resultierenden durch Zelltrümmer getrübten Flüssigkeiten waren jedoch, wie die Tab. I, Nr. 5 zeigt, ebenfalls unwirksam.

Als letzter Einwand gegen die Gültigkeit unserer Versuche bestand die Möglichkeit, daß durch das Glaspulver selber etwaige Antikörper adsorbiert wären. Dies ist von vornherein wenig wahrscheinlich, da die Glastrümmer eine glatte und verhältnismäßig kleine Oberfläche besitzen; es mußte aber geprüft werden. Zu diesem Zwecke wurde von dem gut wirksamen Serum von Kaninchen Nr. 7 vom 5. Tage (bakteriolytischer Titer 0,005 ccm) 1 ccm tropfenweise zu der gleichen Menge Glaspulver, wie sie zu den Hautversuchen diente, im Achatmörser zugesetzt, gründlich verrieben und nach 1-täg. Stehen im Eisschranke abzentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit hatte fast noch denselben bakteriolytischen Titer wie das nicht mit Glaspulver behandelte Serum (Tab. I, Nr. 6).

Die Prüfung der verschiedenen Haut- und Serumproben auf Agglutinine hatte ein entsprechendes Ergebnis, nur daß, wie zu erwarten war, die gefundenen Agglutinintiter bis zum 5. Tage nach der Impfung sich noch in bescheidenen Grenzen hielten (Tab. II).

Tabelle II.

Agglutinintiter.

	Kaninchen N 7		Kaninchen N 8	
	Serum	Hautextrakt	Serum	Hautextrakt
1) Vor der Behandlung	1:10 —	.	1:10 —	.
2) 3 Tage nach der Behandlung	1:10 —	.	1:10 —	.
3) 4 „ „ „ „	1:10 +	.	1:20 ±	
4) 5 „ „ „ „	1:100 ±	1:10 —	1:200 +	1:10 —

Es war also festgestellt worden, daß bei intravenöser Injektion des Choleraantigens die Haut kein Agglutinin und kein Bakteriolysin bildet. — Man konnte aber daran denken, daß eine Antikörperbildung durch die Haut eintreten würde, wenn die Haut mit dem Antigen in stärkerer Konzentration unmittelbar in Berührung käme; das ist der Fall bei der intrakutanen Injektion des Antigens.

Zu diesem Zwecke wurde einem weiteren Kaninchen von 2050 g $^1/_{100}$ Oese bei 60° abgetöteter El Tor-Vibrionen in 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung streng intrakutan eingespritzt: es entstand eine deutliche Quaddel. Vor der Behandlung waren dem Tiere ein Hautstück von $3{,}5 \times 1$ cm Größe sowie eine Blutprobe entnommen worden. 5 Tage nach der Injektion erfolgte die Entnahme einer Blutprobe und je eines ebenso großen Hautstückes (a), das die Injektionsstelle umgriff, und (b) von einer entfernten Körperstelle. Die Titration erfolgte ebenso wie oben beschrieben wurde, und ergab auch bei dieser Technik den charakteristischen Gehalt des Serums an Agglutininen und Bakteriolysinen, dagegen ihr Fehlen in allen untersuchten Hautstücken.

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle III.
Intrakutane Injektion des Antigens.

	Bakteriolyt. Titer	Agglutinintiter
Serum vor der Behandlung	> 0,25, < 0,3	1:10 —
„ nach der „	> 0,0025, < 0,005	1:100 ±
Haut vor der Behandlung	0,3	1:10 —
„ nach der „ a) Injektionsort	> 0,2	1:10 —
„ nach der „ b) fern davon	> 0,2	1:10 —

Zusammenfassung.

Nach intravenöser wie nach intrakutaner Injektion abgetöteter Choleravibrionen an Kaninchen findet bis zum 5. Tage ein starker Anstieg des bakteriolytischen und Agglutinintiters im Serum statt; zu dieser Zeit sind in entsprechenden Mengen Haut höchstens Spuren dieser Antikörper nachweisbar. Die Haut kommt daher bei intravenöser oder intrakutaner Injektion des Antigens als Bildungsstätte der Bakteriolysine und Agglutinine nicht in Betracht.

Literatur.

Bogendörfer, L., Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. 33. 1923. S. 198. — Deutsch, Ann. de l'Inst. Pasteur T. 13. 1899. p. 689. — Köhler, Otto, u. Heilmann, Georg, dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. S. 112. — Paetsch, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. S. 255. — Pfeiffer, R., u. Marx, Ztschr. f. Hyg. Bd. 27. 1898. S. 272. — Prausnitz, C., u. Küstner, H., dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 160. — Wassermann, A., Berl. klin. Wochenschr. 1898. S. 209. — Ders. u. Citron, Ztschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905. S. 331.

Inhalt.

Anigstein, Ludwik, u. **Milinksa, Z.,** Untersuchungen über die Gelbsucht bakteriellen Ursprungs, S. 383.

Brinkmann, J., Reagenzglasstudien zur bakteriziden Wirksamkeit des Hexals und Neohexals. Mit 2 Kurven im Text, S. 426.

Fellinger, Berta, Untersuchungen über die Mundoscillarien des Menschen, S. 398.

Ginsburg, A. N., u. **Schuwalow, W. Th.,** Serodiagnostik der aktiven Tuberkulose mittels Komplementbindung mit den Antigenen Besredkas sowie von Nègre und Boquet, S. 363.

Hartenfels, Helmuth, Erfahrungen mit Meinicke-Extrakten zur Serodiagnostik der Lues, S. 388.

Isabolinsky, M., u. **Gitowitsch, W.,** Ueber die Sachs-Georgi-Syphilisreaktion, S. 393.

Isabolinsky, M., Ueber die Sterilität des Virus fixe, S. 396.

Januschke, E., Kasuistische Beiträge zur Bakteriologie der Aërogenes-Gruppe. Mit 4 Abbildungen im Text, S. 356.

Jeney, A. v., Aendert sich der Paratyphus A-Bazillus durch Tierpassage? Beiträge zur Theorie der Agglutination. S. 366.

Lubinski, Herbert, Statistische Betrachtungen zur Grippepandemie in Breslau 1918—22. Mit 4 Kurven im Text, S. 372.

Lusztig, Alexander, Agglutinationsversuche mit dem Bacillus paratyphus abortus equi, S. 410.

Matsumoto, Takima, Versuche über die Vermehrung von Bakteriophagen, S. 413.

Neuhaus, Carl, u. **Prausnitz, Carl,** Die Rolle der Haut bei der Bildung von Antikörpern. 1. Agglutinine und Bakteriolysine, S. 444.

Nishiura, Seiichi, Ueber die Immunisierung gegen Rauschbrand mit Kulturfiltraten, S. 401.

Plasaj, S., Ueber das Wesen der Bakterienkapseln, S. 353.

Vallen, Ille, Ueber Schädigung der Leukozyten beim d'Herelleschen Phänomen. Mit 1 Abbildung im Text, S. 424.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 91. Heft 7/8.

Ausgegeben am 30. April 1924.

Nachdruck verboten.

Eine „Trockenmethode" und ihre Bedeutung für die bakteriologische Typhusdiagnose.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt für die Typhusbekämpfung beim Hygienischen Institut der Universität Jena (Leiter: Marine-Generaloberarzt a. D. Dr. Hage).]

Von Dr. **Bering.**

Der Wunsch nach zuverlässigeren Methoden zur Züchtung der Typhusbazillen aus Stuhlproben, als es das einfache Plattenausstrichverfahren darstellt, hat zur Angabe einer Reihe von sogenannten Anreicherungsmethoden (z. B. die Anreicherung der Untersuchungsprobe mit Peptonwasser-Brillantgrünlösung nach Loeffler; das Lentz-Tietzsche Abschwemmungsverfahren des auf Malachitgrünagar verarbeiteten Materiales u. a. m.) geführt, die sich in der bakteriologischen Praxis fast alle als mehr oder weniger brauchbar erwiesen haben, ohne daß jedoch irgendeine von ihnen eine wesentliche Verbesserung unserer Untersuchungsmethodik bedeutet hätte. Trotz sorgfältigster Ausübung der Untersuchungstechnik, insbesondere auch bei genauester Prüfung und Einstellung der Nährböden, gelingt in einer Anzahl von sicher positiven Fällen der Typhusbazillennachweis im Stuhl nicht. Daß in diesen Fällen trotzdem eine Bazillenausscheidung anzunehmen ist, beweisen einige von uns beobachtete Fälle von positivem Typhusbazillenbefund im Duodenalinhalt bei fehlendem Bazillennachweis im Stuhl, selbst bei mehrfacher genauester Untersuchung. Die Hervorhebung dieser Tatsache, die dem Bakteriologen als bekannt wohl überflüssig erscheinen könnte, ist wichtig, da in den Kreisen der Praktiker dem negativen Untersuchungsergebnis einer Stuhlprobe häufig zu großer Wert sowohl hinsichtlich der Stellung der Diagnose „Typhus abdominalis" als auch bei der Entscheidung der bakteriologischen Genesung beigemessen wird.

Fragen wir uns nach den Gründen für dies Versagen unserer Züchtungsmethoden, so müssen wir für den größten Teil dieser scheinbar negativen Fälle annehmen, daß in der äußerst kleinen Menge von Untersuchungsmaterial, die wir im gewöhnlichen Plattenausstrich oder auch bei der Abschwemmungsmethode verarbeiten können, überhaupt keine Typhusbazillen enthalten sind. Hauptsächlich handelt es sich hierbei um Stühle von harter Konsistenz (z. B. von Bazillenträgern), in denen die Verteilung der Typhusbazillen keine so gleichmäßige ist wie in dünnbreiigen bzw. flüssigen Stühlen. Wollte man jedoch diesem Mangel durch Verarbeiten einer größeren Menge des Materiales auf einer Platte abhelfen, so würden die dann vielleicht mit zur Aussaat gelangten Typhusbazillen von den Begleitbakterien (in erster Linie Bact. coli, Schimmelpilze und bei Verwendung von nicht karbolisierten Nährböden Bact. proteus) überwuchert und dadurch dem Auge des Untersuchers unauffindbar gemacht.

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die von Kister[1]) beobachtete Hemmung des Schwärmvermögens der Proteus-Bazillen durch den gewöhnlichen Endo-Nährboden können wir nicht bestätigen. Auf dem von uns benutzten Endo-Agar fand das hauchartige Schwärmen der Proteus-H-Formen nach 16 bis 18-stünd. Bebrütung stets in der bei den einzelnen Stämmen allerdings sehr verschieden stark ausgeprägten Weise statt. Da wir den Endo-Agar nach Originalvorschrift herstellen, ist es anzunehmen, daß die Erfolge Kisters auf der besseren Abstimmung des Nährbodens hinsichtlich seines Gehaltes an Fuchsin und Natriumsulfit beruhen. Es erscheint jedoch fraglich, ob es auf diese Weise ohne Einbuße an der Güte des Nährbodens gelingt, das Schwärmen derart zu unterdrücken, daß man die Platten eine genügend lange Zeit beobachten kann, wie es für die Typhus-, insbesondere die Paratyphus B-Diagnose oft wünschenswert ist.

Dieser zweite Uebelstand ist der Grund für das Versagen der meisten Anreicherungsmethoden, da eine ausreichende Hemmung der Begleitbakterien durch die die verschiedenen Anreicherungsverfahren kennzeichnenden chemischen Agentien nicht stattfindet. Lediglich für die Züchtung des Paratyphus B (Schottmüller) und des Bact. enteritidis Breslau lassen sich mittels der Lentz-Tietzschen Methode Bedingungen von optimaler Bedeutung herbeiführen, die ein Verarbeiten relativ großer Mengen von Material auf einer Platte ermöglichen und uns in den Stand setzen, ein negatives Untersuchungsergebnis als ein den wirklichen Verhältnissen entsprechendes zu bewerten. Für die Darstellung des Typhusbazillus sind dagegen die Bedingungen weit ungünstiger.

Zur Behebung dieser Mängel muß es also unser Bestreben sein, eine Untersuchungsmethodik zu finden, die uns gestattet, mehr Material, als es bisher möglich war, auf derselben Nährbodenmenge zu verarbeiten und uns gleichzeitig hinreichend davor sichert, daß die Typhusbazillen von anderen Bakterien überwuchert werden. Es ist also unser Ziel, die in einer relativ großen Untersuchungsprobe enthaltenen Keime möglichst in Einzelkolonien darzustellen.

Ein Weg, um diesem Ziele näherzukommen, bedeutet die Anwendung der von L. S. Dudgeon (1) in die bakteriologische Untersuchungstechnik eingeführten Trockenmethode. Sie besteht darin, daß das zu untersuchende Material (Sputum, Schleim, Faeces) auf unglasierten, gebrannten Tonplatten ausgestrichen und einige Zeit ($^1/_2$—2 Std.) bei Zimmertemperatur getrocknet wird. Danach wird die völlig eingetrocknete Menge mit einem Messer abgekratzt, man erhält dadurch ein absolut trockenes, feines Pulver. Mittels eines Glasspatels wird ein Teil dieses Pulvers auf einer Nährbodenplatte verrieben. Dudgeon bediente sich dieses Verfahrens zur Untersuchung der Stühle ruhrkranker bzw. -verdächtiger Soldaten an der englischen mazedonischen Front. An Stelle von Tonplatten benutzte er gewöhnliche Ziegelsteine. Die Erfolge, die er mit dieser einfachen Methode erzielte, waren durchaus zufriedenstellend, so daß er die Anwendung des Verfahrens weiter empfahl, zumal im Hinblick auf die nach Verbesserung der primitiven Methodik und Beschaffung geeigneteren Materials zu erwartenden noch günstigeren Untersuchungsergebnisse. Die Erwartungen Dudgeons wurden in der

1) Endo-Nährböden bei der Pestdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924.)

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Folgezeit durch die Untersuchungen Wordleys (2, 3) bestätigt. Wordley prüfte die Trockenmethode an Stuhlproben von Typhus- bzw. Paratyphus B-Kranken und an Fällen von Enteritis nach. Parallel zu dieser Untersuchungsreihe wandte er die Anreicherungsmethode mittels Peptonwasser-Brillantgrünlösung an. Außerdem arbeitete W. noch mit künstlich mit Typhus- und Ruhrbazillen infizierten Faeces und verwandte die Trockenmethode zum besonderen Studium der in verschiedenen Fällen durch den Darm ausgeschiedenen hämolytischen Streptokokken. Gute Erfolge erzielte W. weiterhin bei der Anwendung dieses Verfahrens zur Züchtung von Pneumokokken aus Pneumonikersputis. W. hebt insbesondere die außerordentlich prägnante Darstellung von Einzelkolonien hervor und rät hauptsächlich aus diesem Grunde zur Heranziehung der Methode für die kulturelle Sputum- und Stuhluntersuchung. Unter den insgesamt 64 Untersuchungen von Stuhlproben, Typhus-, bzw. Paratyphus B- und Enteritiskranker war von 21 positiven Befunden in 9 Fällen die Trockenmethode die einzige, mittels welcher das positive Resultat erzielt wurde, während die Pepton-Brillantgrünmethode nur in 2 Fällen allein zum Ziele führte. Die Ergebnisse der übrigen Untersuchungen Wordleys ähneln im wesentlichen denen dieser ersten Untersuchungsreihe, so daß auf die Wiedergabe von Einzelheiten verzichtet werden kann. Die Trockenmethode erwies sich hinsichtlich der Ausbeute an positiven Befunden allen anderen Anreicherungs- und direkten Methoden nicht unerheblich überlegen. Es ist zu beachten, daß W. gerade bei den Züchtungsversuchen von Ruhr- bzw. Pseudoruhrbazillen und Pneumokokken so gute Resultate erzielte, ein Beweis, daß das Trocknen keinen schädigenden Einfluß auf diese sonst so leicht vulnerablen Mikroorganismen ausgeübt hat. Es findet also eine Abtötung von Bakterien durch das Trocknen in irgendwie nennenswerter Zahl kaum statt. Jedenfalls erscheint es im höchsten Grade unwahrscheinlich, daß infolge des Trocknungsvorganges ubiquitäre oder parasitische Organismen geschädigt, pathogene Arten jedoch sozusagen elektiv verschont werden. Die Erfolge des Trockenverfahrens beruhen also nicht auf einer bakteriologischen oder chemisch bedingten Anreicherung, wie bei den üblichen Anreicherungsmethoden, sondern mehr in einer günstigeren Ausnützung des durch die Trocknung eingeengten Ausgangsmaterials, wobei zu beachten ist, daß insbesondere auch die Darstellung der Keime auf der Platte eine distinktere ist, als wenn ein mehr oder weniger stark wasserhaltiges Material verwendet wird, das eine Verschmierung der Kolonien zuläßt.

Als Referat war mir noch die Arbeit von Pane (4) zugänglich, der ebenfalls über günstige Untersuchungsergebnisse mittels der Trockenmethode berichtet.

Die Technik, deren wir uns bei der Prüfung des Verfahrens bedienten, gestaltete sich folgendermaßen:

Von dem zur Untersuchung eingesandten Material (Faeces) wurde ungefähr die 6—8fache Menge von derjenigen, die gewöhnlich auf einer kleinen Malachitgrünplatte verarbeitet wird (annähernd also etwa ein gestrichener Teelöffel voll) auf einer Tonplatte von 10 cm Radius und etwa 1—1,5 cm Dicke mittels Glasspatels verrieben. Diese Tonplatten sind in jeder Töpferei leicht erhältlich. Nach völliger Trocknung des ausgestrichenen Materials kratzten wir dasselbe mit einem sterilen Skalpell ab und verarbeiteten das Streupulver auf einer, gelegentlich in besonderen Fällen auch auf 2 und 3 mittelgroßen Endo-Platten, die

Generated on 2019-09-15 11:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

in der üblichen Weise dann etwa 24 Std. bei 37° bebrütet wurden. Ich möchte schon hier bemerken, daß wir in den Fällen, in denen das Pulver auf mehreren Nährbodenplatten verarbeitet wurde, niemals Differenzen in den Untersuchungsergebnissen der einzelnen Platten zu verzeichnen hatten, so daß wir später stets nur mit einer Endo-Platte arbeiteten. Lediglich bei dünnbreiigen, sehr bakterienreichen Stuhlproben ist die Zuhilfenahme mehrerer Platten angezeigt. Bei dem Abkratzen des getrockneten Materials schützten wir uns durch eine vorgehaltene Glasplatte, die nach ihrer Verwendung leicht in einer Desinfektionslösung zu desinfizieren ist, vor verstreuten Stuhlpulverteilchen. Die gebrauchten Tonplatten werden am besten in einem größeren Gefäß im Dampf sterilisiert, dann gewaschen und vor erneuter Verwendung im Trockensterilisator keimfrei gemacht. Die von uns mit dem Trockenverfahren untersuchten Proben wurden außerdem nach der in den meisten Laboratorien geübten Weise verarbeitet (Ausstreichen auf Malachitgrünagar mittels Glasspatels, mit dem anhaftenden Rest wird eine größere Spezialagarplatte bestrichen — wir benutzten Endo-Agar — nach 24-stünd. Bebrütung Abschwemmen der Malachitgrünplatte mit einigen Kubikzentimetern Kochsalzlösung und Abimpfen auf Endo- oder ähnlichen Agar). Dudgeon und Wordley geben in ihren Arbeiten an, daß das Untersuchungsmaterial zunächst auf einer Tonplatte vorgetrocknet werden soll — etwa bis zur Konsistenz einer steifen Paste — um danach auf einer 2. Platte nach nochmaliger Verreibung völlig eingetrocknet zu werden. Wir halten diese die Untersuchung unnötig komplizierende Anordnung für überflüssig und begnügen uns mit dem einmaligen Ausstreichen. Von einem Vorteil der „zweizeitigen“ Originalvorschrift haben wir uns nicht überzeugen können. Eine besondere Auswahl der Proben, die zur Untersuchung mittels der Trockenmethode gelangten, fand nicht statt; wir waren jedoch bemüht, möglichst Stuhlproben von Bazillenträgern bzw. der Bazillenträgerschaft verdächtigen Personen heranzuziehen. Leider war in einer nicht unbeträchtlichen Zahl der Fälle die Stuhlmenge, die für die Verarbeitung mittels der Trockenmethode verfügbar war, so gering, daß auf den großen Vorteil der Methode, nämlich die Verarbeitungsmöglichkeit erheblicher Materialmengen, von vornherein Verzicht geleistet werden mußte. Auf diesen Umstand, der das Gesamtergebnis der Untersuchungen natürlich ungünstig beeinflussen mußte, ist bei der Beurteilung unserer Befunde Rücksicht zu nehmen.

Insgesamt untersuchten wir 112 Stuhlproben, von 102 verschiedenen Personen, von denen 41 ein positives Resultat ergaben. Von diesen 41 positiven Fällen wurden 10 allein durch das Trockenverfahren erhalten, während die restlichen 31 Fälle auch mittels der üblichen Laboratoriumsmethode positiv ausfielen. Der Fall, das einem positiven Laboratoriumsergebnis ein negatives Resultat der Trockenmethode entgegengestanden hätte, wurde von uns nicht beobachtet. Die 10 Fälle stellen demnach eine absolute Ueberlegenheit der Trockenmethode über das bisher geübte Verfahren dar. Die wenigsten positiven Befunde wurden durch das Abschwemmungsverfahren erzielt. Im einzelnen verteilen sich die Fälle auf folgende Gruppen (s. Tab. S. 453).

Unter den 21 Stuhlproben von sicheren Typhusbazillenträgern konnte der Bazillenbefund 16mal durch das Trockenverfahren, darunter 12mal auch durch die Laboratoriumsmethode erbracht werden. In einem weiteren Falle wurde der Verdacht der Bazillenträgerschaft durch die Untersuchung mittels der Trockenmethode bestätigt, ein zweiter in diese

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	21 Bazillenträger	22 mutmaßliche Bazillenträger	33 Typhuskranke	10 Bakteriologisch genesen?	26 Typhusverdacht	112 insgesamt
Positiv im Laboratoriumsverfahren	12	1	17	1	θ	31
Positiv im Trockenverfahren	16	2	21	1	1	41
T. V. > L. V.	4	1	4	θ	1	10

Gruppe gehöriger Fall konnte mit beiden Methoden festgestellt werden, So klein an und für sich diese Zahlenangaben sind, so rechtfertigen unsere Untersuchungsergebnisse trotzdem die Empfehlung, das Trockenverfahren besonders zur Untersuchung von Bazillenträgern bzw. mutmaßlichen Bazillenträgern heranzuziehen. Da die Auffindung oder Bestätigung der Bazillenträger durch die Stuhluntersuchung eine der wichtigsten Aufgaben der planmäßigen Typhusbekämpfung darstellt, erscheint es im Hinblick darauf geboten, jede — auch nur geringe — Verbesserung unserer Untersuchungstechnik zur Lösung dieser oft schwierigen Aufgabe mit zu verwerten.

Von geringerer Bedeutung sind die 33 Fälle von klinisch sicherem Typhus abdominalis. Auch in dieser Gruppe überwiegt das Trockenverfahren mit 21 : 17 positiven Züchtungsergebnissen über die Laboratoriumsmethode. Die Mehrzahl dieser Fälle ist jedoch durch eine positive Blutkultur oder eine eindeutige Widalsche Reaktion schon bakteriologisch-serologisch als Typhus bestätigt. Wir sehen aber aus diesen Befunden recht deutlich, daß bei alleiniger Anwendung der Laboratoriumsmethode bestimmt eine Reihe von Typhusbazillen ausscheidenden Kranken dem bakteriologischen Nachweis entgeht, ein weiterer Beweis für unsere oben geäußerte Ansicht, daß die bisher zur Untersuchung üblichen Stuhlmengen für viele Fälle nicht ausreichen. Die Frage nach der bakteriologischen Genesung konnte in 10 Fällen einmal auf Grund des in beiden Verfahren positiven Befundes verneint werden. Unter den Fällen von Typhusverdacht gelang in einem derselben mittels der Trockenmethode die Züchtung von Typhusbazillen, wodurch die Diagnose geklärt war. Dieser, sowie zwei andere Fälle, in denen sich uns das Trockenverfahren besonders bewährte, mögen aus der Reihe der einzelnen Fälle näher geschildert sein.

Fall 1. 27-jähr. Schutzpolizist. Seit ca. 3—4 Wochen Fieber unklarer Herkunft. Diagnose: Fieberhafter Darmkatarrh. Typhus abdominalis? Auf den positiven Widal (1 : 200 für Typhus, 1 : 50 für Para B) kann wegen häufig stattgefundener Schutzimpfungen kein diagnostisch bindender Wert gelegt werden. Blutkultur negativ. Stuhluntersuchung: Laboratoriumsverfahren negativ, Trockenverfahren positiv. Eine nochmalige Untersuchung nach 2 Wochen war in beiden Verfahren negativ, wahrscheinlich aus dem Grunde, daß der inzwischen eingetretenen klinischen auch die bakteriologische Genesung gefolgt war. Da der Fall klinisch äußerst leicht verlief und nicht mit Sicherheit zu diagnostizieren war (Schutzimpfung!), ermöglichte hier das Trockenverfahren allein die Diagnosestellung.

Fall 2. 38-jähr. Typhusbazillenträgerin. Vor 8 Jahren Typhus. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen besteht eine unregelmäßige und nur spärliche Bazillenausscheidung. Im Duodenalsaft fanden sich reichlich Typhusbazillen. Erneute Stuhluntersuchung ergab: Laboratoriumsmethode negativ, Trockenmethode positiv. Eine Wiederholung nach ca. 14 Tagen hatte dasselbe Ergebnis!

Fall 3. 22-jähr. Typhusbazillenträgerin. Seit etwa einem Jahre Gallensteinbeschwerden. Exstirpation der Gallenblase (Chirurgische Klinik Jena). Die ersten beiden Stühle nach der Operation ergaben sowohl mittels des Laboratoriumsverfahrens als auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Trockenmethode positiven Typhusbazillenbefund, in der 3. Stuhlprobe konnten nur noch durch das Trockenverfahren Typhusbazillen festgestellt werden. Weitere Stuhlproben waren dann übereinstimmend negativ. Dieser Fall zeigt ganz eindeutig, daß uns das Trockenverfahren durch die Möglichkeit, größere Stuhlmengen zu untersuchen, in den Stand setzt, auch relativ geringe Grade der Ausscheidung von Typhusbazillen (wie im vorliegenden Falle nach Entfernung des Bazillendepots) festzustellen.

Neben dem schon des öfteren betonten Vorteil des Trockenverfahrens, nämlich dem Arbeiten mit größeren Mengen, können auch wir den von Dudgeon und Wordley besonders hervorgehobenen zweiten Vorzug der Methode, die in der großen Mehrzahl der Untersuchungen beobachtete vorzügliche Darstellung von Einzelkolonien, bestätigen. Die Erfolge des Trockenverfahrens basieren zu einem nicht geringen Teil auf dieser, durch keine andere Methode (abgesehen von den Verdünnungsmethoden) in so vollkommener Weise zu erzielenden Isolierung der Keime. Das Trocknen bringt das Untersuchungsmaterial infolge der Wasserentziehung in den für die kulturelle Bearbeitung am besten geeigneten Zustand.

Ein Mangel des Trockenverfahrens besteht jedoch darin, daß in manchen Fällen — es handelt sich dabei einerseits um Stühle mit extrem hohem, andererseits um solche mit außerordentlich geringem Keimgehalt — die „Dosierung" des Stuhlpulvers eine schwierige ist. Im Anfang wird man sich am besten so behelfen, daß man mehrere Nährbodenplatten (Endo) benutzt, auf denen man verschiedene Mengen des Pulvers verarbeitet. Nach wenigen Versuchen wird man zu einem für die meisten Fälle zutreffenden durchschnittlichen Maße gelangen. Von flüssigen Stühlen muß man natürlich ziemlich beträchtliche Mengen zum Trocknen verwenden, um überhaupt eine ausreichende Menge von Stuhlpulver zu erhalten. Trotzdem läßt es sich nicht mit Sicherheit vermeiden, daß einmal die ganze Platte von einem einzigen, dichten Bakterienrasen von dann natürlich nicht mehr zu differenzierenden Kolonien bewachsen ist, während ein andermal sich das Wachstum auf einige wenige auf die Platte verstreute Kolonien beschränkt. Diese durch die Extreme des Keimgehalts einzelner Stuhlproben bedingten Versager der Trockenmethode lassen die Grenzen erkennen, die dem am Anfang dieser Arbeit geäußerten Ziele gesteckt sind. Trotz Anwendung der Trockenmethode hatten wir in verschiedenen Fällen den Eindruck, daß uns der Bazillennachweis im Stuhle nicht gelungen war. Wir versuchten daher durch Vorbehandlung der zu untersuchenden Stuhlproben mit bestimmten chemischen Mitteln, die unter Schonung der Typhusbazillen das übrige Bakterienwachstum hemmen, eine gewisse Auswahl der Keime schon vor dem Trocknen der Stühle herbeizuführen. Die Versuche haben jedoch vorläufig kein praktisch verwertbares Resultat gezeitigt. Die weitere Bearbeitung dieser Frage, die ja verschiedene Modifikationen zuläßt, wird von uns fortgeführt. Auch durch das Trockenverfahren werden eben nicht alle Schwierigkeiten behoben, die einer idealen Methode der kulturellen Stuhluntersuchung im Wege stehen. Die nicht zu leugnenden Vorzüge des Verfahrens rechtfertigen jedoch die Empfehlung der Methode. Ihrer allgemeinen Anwendung steht die gewisse Kompliziertheit entgegen. Zu Massenuntersuchungen ist das Trockenverfahren kaum geeignet. Seine Heranziehung zur Untersuchung bestimmter, besonders wichtiger Proben wird sich dagegen in jedem Laboratorium ermöglichen lassen.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

1) Dudgeon, L. S., Studies of Bacillary Dysentery occurring in the British Forces in Macedonia. (Med. Res. Council, Special Report. Ser. N. 40. 1919. p. 19.) — 2) Wordley, E., A new method for the isolation of organisms from faeces and sputum, with some observations on haemolytic streptococci in faeces obtained by this method. (Journ. Hyg. Vol. 20. p. 60.) — 3) Ders., Further results on the isolation of organisms from faeces by a new method. (Ibid. p. 360.) — 4) Pane, Rif. med. 1921. Nr. 49; Ref. Med. Klin. 1922. Nr. 43.

Nachdruck verboten.

Zur Differentialdiagnose zwischen Vibrionen und Bacillus faecalis alcaligenes.

[Aus der Untersuchungsabteilung (stellvertret. Leiter: Dr. Lubinski) des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Dir.: Geh. Rat Prof. Pfeiffer).]

Von **Werner Kollath,** Assistent, und **Herbert Lubinski,** Abt.-Leiter.

Wir hatten in letzter Zeit Gelegenheit, uns anläßlich eines Falles mit der Frage der Unterscheidung von Vibrionen und Bacillus faecalis alcaligenes zu beschäftigen.

Im Laufe des September erkrankte in der Psychiatrischen Universitätsklinik eine bereits seit mehreren Monaten dort befindliche Patientin, P. Th., die schon vorher zeitweise an Durchfällen gelitten hatte, nach einer längeren Pause abermals an heftigen Durchfällen und starkem Erbrechen. Wenige Tage vorher waren unter ähnlichen Erscheinungen 2 Patientinnen der gleichen Station ad exitum gekommen, von denen die eine sich erst wenige Tage in der Klinik befand. Während man bei den beiden ersten Fällen, trotz negativer serologischer und bakteriologischer Befunde, eher an eine Ruhr oder ruhränliche Erkrankung dachte, war der klinische Verlauf im Falle P. Th. derart, daß der Verdacht auf Cholera nicht von der Hand zu weisen war. Es erfolgte deswegen Verlegung nach der medizinischen Klinik, aus deren uns freundlichst zur Verfügung gestellten Krankengeschichte wir folgendes entnehmen.

Aufnahmebefund: Gesicht blaß, verfallen; Puls nicht zu fühlen; Arme und Beine fühlen sich kühl an; Zunge etwas himbeerfarben; Stimme nicht tonlos, abgehobene Hautfalten bleiben nicht stehen. Sonstiger Befund o. B. Behandlung: Kochsalzinfusionen und Excitantien. Enterale Einverleibung von Kaffee und Kognak riefen Erbrechen hervor. Am 2. Krankheitstage hörte zwar das Erbrechen auf, in der nächsten Nacht trat aber unter zunehmender Herzschwäche und weiteren profusen Durchfällen der Tod ein.

Die wenige Stunden nach dem Tode vorgenommene Autopsie ergab folgenden Befund:

Hypostasis pulmonum, Tbc. lymphoglandularum hili sin., Lien septicum, Cholelithiasis, Enteritis levis und Anaemia hepatis. Die Milz war weich und zerfließlich, die Darmschlingen liegen gebläht vor. Durch die Darmwand hindurch erkennt man eine leichte Injektion der Gefäße. Sonst fällt an der Serosa und auch an der Mucosa nichts Abnormes auf. Der Darminhalt ist gallig gefärbt, im Dickdarm fäkulent, außerdem enthält er reichlich Gas. Sonstiger Befund: o. B. (Auszug aus dem Protokoll des Pathologischen Instituts der Universität.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakteriologische Untersuchung: Der uns am 1. Tage des Aufenthalts in der med. Klinik mit dem Vermerk „Choleraverdacht“ eingesandte Stuhl war dünnflüssig, von leicht gelblicher Färbung und enthielt zahlreiche kleine Flocken. Die Verarbeitung erfolgte den Vorschriften gemäß.

Im Ausstrichpräparat fanden sich neben anderen Bakterien zahlreiche gekrümmte, gram negative Stäbchen mit deutlicher Vibrionenform, darunter solche, die sich von echter Cholera kaum unterscheiden ließen. Es fehlte allerdings die fischzugartige Anordnung.

Nach 6-stünd. Bebrütung zeigten sich in den von der Oberfläche der Peptonkölbchen hergestellten hängenden Tropfen kommaähnliche, lebhaft bewegliche Gebilde, deren Zahl nach 12 Std. beträchtlich zugenommen hatte. Die Untersuchung am nächsten Morgen ergab sowohl auf den originaliter mit Material beschickten, wie auch auf den von Peptonwasser aus beimpften Platten zahlreiche, bzw. massenhafte, dem Aussehen nach der Cholera ähnliche Kolonien fast in Reinkultur, die aus deutlich gekrümmten Mikroorganismen vom Aussehen der Vibrionen bestanden. Eine sofort vorgenommene orientierende Agglutination im hängenden Tropfen war aber ebenso negativ wie der daraufhin angestellte Agglutinationsversuch, der mit einem Choleraeselserum vom Titer 1:1600 vorgenommen wurde. Auch der Pfeiffersche Versuch zeigte ein vollkommen negatives Resultat. Es war innerhalb der 1. Std. bei mehrfacher Entnahme fast nichts von einer Bakteriolyse zu bemerken, jedenfalls war sie nicht stärker als im Kontrollversuch.

Der Verdacht, daß es sich um Cholera handeln könnte, hatte somit durch den Ausfall der serologischen Untersuchung keine Bestätigung erfahren.

Unterdessen war Patientin verstorben. Bei der Sektion, deren wichtigste Ergebnisse oben mitgeteilt sind, wurden zu weiterer Verarbeitung abgebundene Darmschlingen aus dem oberen, mittleren und unteren Dünndarm entnommen, außerdem Stücke von Leber, Milz und Gallenblase. In den von den genannten Leichenteilen angelegten Originalausstrichen fanden sich nur auf der Mucosa des mittleren Darmteiles verdächtige Gebilde. Bei der Züchtung aus Peptonwasser gelang es aber, auch aus den anderen Teilen die bereits im Stuhl gefundenen, oben beschriebenen Bakterien zu isolieren. Die isolierten Stämme zeigten zwischen den einzelnen Individuen leichte Verschiedenheiten; neben mittelgroßen, durch Fuchsin gleichmäßig gefärbten Formen, fanden sich auch deutlich gekrümmte Stäbchen, die länger oder kürzer als die eben genannten waren und teilweise eine segmentäre Färbung aufwiesen. Bei Pepplerscher Geißelfärbung zeigten alle Stämme eine endständige Geißel; nur bei wenigen Exemplaren waren zwei nebeneinandersitzende endständige Geißeln zu sehen. Amphitriche Begeißelung wurde ebensowenig wie peritriche beobachtet.

War somit der Choleraverdacht gänzlich beseitigt, so interessierte uns doch die Frage, um was für Mikroorganismen es sich im vorliegenden Falle handeln und in welcher Beziehung sie zur Aetiologie der Erkrankung standen. Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe weiterer Untersuchungen angestellt, die bald zu einem befriedigenden Ergebnis führten.

Klärung brachte die Verimpfung der Kultur auf die bei der Typhusdiagnose gebräuchlichen Differenziernährböden, die aus einer Nutroselackmuslösung bestehen, der verschiedene Zuckerarten zugesetzt sind.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir verwendeten Traubenzucker, Milchzucker, Mannit, Maltose und Saccharose. In diesen Nährböden riefen sämtliche echten Cholerastämme wie auch 6 Stämme choleraähnliche Vibrionen binnen 24 Std. außer in dem mit Milchzucker versetzten Röhrchen Säuerung und Gerinnung hervor, während alle aus dem vorliegenden Falle isolierten Stämme eine intensive Bläuung, also Alkalisierung, bewirkten. Allein auf Grund dieses Verhaltens halten wir uns für berechtigt, die gefundenen Mikroorganismen als zur Gruppe des Bacillus faecalis alcaligenes gehörig zu betrachten. Diese Annahme fand eine weitere Bestätigung in dem Verhalten auf den übrigen, zur Prüfung herangezogenen Nährböden, die zum Vergleich mit einem Alcaligenes-Stamm unserer Sammlung gleichzeitig beimpft wurden. Unsere Beobachtungen entsprachen zum größten Teile den von anderer Seite (Baerthlein, Pollak) bereits beschriebenen. Nur bei der Prüfung der Hämolysebildung auf Kaninchenblutagar zeigte sich nach 36 Std. deutliche Hämolyse im Gegensatz zu den Angaben von Baerthlein. Einer besonderen Besprechung wert scheint uns das Verhalten auf Dieudonné-Agar, auf dem unser Stamm ebenso kräftig wie echte Vibrionen wuchs. Bei den ersten Ueberimpfungen zeigten die Kolonien ein Aussehen, das sie fast gar nicht von Vibrionen abgrenzen ließ. Nach einigen Wochen der Weiterzüchtung jedoch zeigten sie einen dunkelgrünen Schimmer und leichte Trübung, wodurch sie sich von Cholerakolonien deutlich unterschieden. Sie glichen jetzt vollkommen den Kolonien eines Alcaligenes-Stammes unserer Sammlung. Die im Anfang vorhandene Vibrionenform veränderte sich im Laufe der Züchtung insofern, als die Mehrzahl der Bakterien ein mehr gestrecktes Aussehen aufwies und nur noch wenige Individuen eine deutliche Krümmung zeigten. Diese Krümmung konnten wir im Gegensatz zu Pollak nicht nur bei Züchtung auf Dieudonné-Agar beobachten, sondern fanden sie auch in Bouillon- und Peptonwasserkulturen.

Zur weiteren Identifizierung stellten wir uns sowohl von dem aus dem Stuhl gezüchteten Stamm, wie von einem in unserer Sammlung befindlichen echten Choleravibrio agglutinierendes Kaninchenserum her. Nach 3maliger Injektion lebender Kulturen ergab die Agglutination folgende Resultate:

gegen	Choleraserum Woitas	Serum 799[1])
Stamm Woitas	1:1600 (3200)	1:50 (schwach)
Stamm 799	—	1:6400
Faecalis alcaligenes (Sammlungsstamm)	—	—

Die Prüfung der beiden Sera mit weiteren echten Cholerastämmen hatte beim Serum Woitas ein positives Ergebnis, beim Serum 799 war auch in der stärksten Konzentration keine Spur von Agglutination zu entdecken. Die choleraähnlichen Vibrionen wurden ebenso wie der Faecalis alcaligenes-Stamm unserer Sammlung von keinem der beiden Seren beeinflußt. Dagegen wurden die aus den verschiedenen Leichenteilen gezüchteten Stämme vom Serum 799 bis zu einer Verdünnung von 1:800 agglutiniert.

Unser Stamm erwies sich als für Meerschweinchen pathogen bei Verimpfung von $^1/_5$ Oese einer 18-stünd. Kultur in das Peritoneum.

1) Serum 799 ist mit dem aus dem Stuhle der Pat. hergestellten Stamm hergestellt.

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Intraperitoneale Verimpfung von $1/_{10}$ Oese, intramuskuläre einer ganzen Oese auf Meerschweinchen hatte ebenso wie die enterale Infektion säugender Meerschweinchen und die Verimpfung in den Brustmuskel von Tauben keinen Erfolg.

Eine Pathogenität des Alcaligenes für Menschen ist im Allgemeinen wohl kaum anzunehmen. Vereinzelte Beobachtungen, in denen der Faecalis aus dem Blute (Baerthlein) und aus Roseolen (Petruschky) gezüchtet wurde, lassen zwar eine gewisse Pathogenität als möglich erscheinen. Derartige vereinzelte Befunde aber kann man jedoch bei sehr vielen saprophytär im menschlichen Körper vorkommenden Bakterien erheben. Es handelt sich dann, wie wir uns ausdrücken möchten, um eine Zufallspathogenität unter besonderen Bedingungen. Ob der Faecalis bei den Erkrankungen des Darmes, bei denen er so häufig gefunden worden ist, irgendeine ätiologische Rolle spielt, muß dahingestellt bleiben. Beweise sind bisher dafür nicht erbracht worden. Auch für unseren Fall müssen wir die Frage der Aetiologie vollkommen offen lassen.

Die Durchsicht der Literatur zeigte uns, daß ähnliche Fälle bereits mehrfach beschrieben sind. Pollak isolierte aus dem Darminhalt mehrerer an Brechdurchfall erkrankter und auch gestorbener Personen auf Dieudonné-Agar Kolonien, die anfangs echten Cholerakolonien völlig ähnlich waren, auch aus gekrümmten Stäbchen bestanden und deshalb zunächst als Vibrionen angesprochen wurden. Bei Verbringung auf Agarplatten jedoch und nach mehreren Monaten der Weiterzüchtung bestanden diese Kolonien vorzugsweise aus Stäbchen und zeigten nur noch einzelne gebogene Individuen. Bei Rückimpfung auf Dieudonné wurden die gebogenen Formen wieder zahlreicher. Das Verhalten dieser Mikroorganismen in den Zuckerdifferenziernährböden ergab, daß es sich um den Bacillus faecalis alcaligenes handelte. Diese Formveränderungen beobachteten wir auch auf allen anderen Nährböden (Agar, Peptonwasser, Bouillon) und nicht nur auf Dieudonné, wodurch unser Stamm den Vibrionen viel ähnlicher wird.

Weitere ausführliche Untersuchungen sind angestellt von Baerthlein, der neben einer Zusammenfassung und Kritik der von Petruschky angegebenen Charakteristika des Faecalis und einer Kritik der Literatur, auf die wir hier verweisen möchten, seine eigenen Erfahrungen mitteilt. Er stellt sich auf den Standpunkt, daß der Faecalis alcaligenes charakterisiert wird durch sein Verhalten auf den Differenziernährböden (Alkalibildung), und daß demgegenüber alle anderen beschriebenen Kennzeichen nicht konstant sind. So kann man auch bei scheinbaren Vibrionen einen Faecalis vor sich haben. Eine Stäbchenform ist nicht Bedingung. Dagegen ist in der Diskussion zu Baerthleins Vortrag von Lentz der Einwand erhoben worden, es sei nicht angängig, auf diese Weise derartige vibrionenähnliche Mikroorganismen nur auf Grund ihres biologischen Verhaltens in den Differenziernährböden unter Hintansetzung ihrer Form zu klassifizieren. Wir möchten uns aber mit Händel und Neufeld (Diskussionsbemerkungen) auf Baerthleins Standpunkt stellen, zur Gruppe der choleraähnlichen Vibrionen nur diejenigen zu rechnen, die nicht mit dem Bacillus faecalis alcaligenes in bezug auf die Alkalibildung gleiche biologische Eigenschaften haben. Bekanntlich sind die einzelnen Stämme ja nicht nur kulturell und ihrer Form nach verschieden, sondern auch in serologischer Hinsicht sind sie oft so different, daß ein Faecalis-Serum

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

meist nur seinen homologen Stamm, nicht aber einen heterologen beeinflußt. Wahrscheinlich haben wir es mit ähnlichen Verhältnissen zu tun, wie sie beim Coli, Proteus u. a. vorliegen. Als Beispiele für die Verschiedenheit der einzelnen Stämme möchten wir noch besonders auf die bei unserem Stamme gefundene Fähigkeit der Hämolysebildung und die Tierpathogenität hinweisen. Nach Baerthlein soll Hämolyse nie beim Faecalis vorkommen. Die von uns beobachtete Tierpathogenität ist bisher nur 1mal von Petruschky beschrieben worden, während andere eine solche nicht beobachten konnten.

Die Häufigkeit des Vorkommens von vibrionenähnlichen Formen des Bacillus faecalis alcaligenes beleuchtet die Angabe von Stutzer, daß unter 15 während der Choleraepidemie in Woronesh isolierten „choleraähnlichen Vibrionen“ 14! Alkalisierung der Differenziernährböden bewirkten und deshalb zur Faecalis-Gruppe gerechnet wurden. Vielleicht erfahren durch ausgedehntere Anwendung der Differenziernährböden manche Fälle von Vibrionen, die nicht agglutiniert wurden, eine einfache Aufklärung.

Benutzte Literatur.

1) Baerthlein, Ueber choleraähnliche Vibrionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. S. 321.) — Ders., Ueber die Differentialdiagnose der choleraähnlichen Vibrionen. (Berl. klin. Wochenschr. 1912. S. 156.) — 3) Ders., Diskussionsbemerkungen zu vorstehendem Vortrage von Lentz, Händel u. Neufeld. (Ebenda. 1912. S. 181/2.) — 4) Stutzer, Die biologischen Eigenschaften der in Woronesh während der Choleraepidemie des Jahres 1911 beobachteten choleraähnlichen Vibrionen. (6. allruss. Bakt.- u. Epidemiologenkongreß; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 74. 1923. S. 31.) — 5) Petruschky, Bakteriochemische Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. S. 625, 657.) — 6) Ders., Bacillus faecalis alcaligenes (n. sp.) (Ebenda. Abt. I. Bd. 19. 1896. S. 187.) — 7) Ders., Versuche zur spezifischen Behandlung des Typhus abdominalis. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 11. 1902. S. 573.) — 8) Pollak, Ueber Formenwechsel bei dem Bacillus faecalis alcaligenes. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 68. S. 288.) — 9) Ders., Ueber den klinischen Nachweis des Typhusbazillus. (Hyg. Rundsch. 1897. S. 22; Centralbl. f. klin. Med. 1896. S. 786.) — 10) Ders., Ueber vibrionenähnliche Formen des Bacillus faecalis alcaligenes. (Berlin. klin. Wochenschr. 1912. S. 399.)

Nachdruck verboten.

Biologisches über den Erreger der Coli-Pyelocystitis.

I. Mitteilung: Agglutinationen mit den Patientenseris.

[Aus der Universitätskinderklinik Graz (Prof. Franz Hamburger.]

Von Dr. **Hermann Czickeli,** Assistenten der Klinik.

Der Zweck vorliegender Arbeit ist die Klärung der Frage, gibt es ein durch besondere biologische Eigenschaften ausgezeichnetes Bacterium coli, welches die Coli-Pyelocystitis verursacht?

Die bestehenden Erklärungsversuche über den Modus der Infektion der Blase bzw. des Nierenbeckens, mag nun eine Aszendierung durch die Harnröhre, hämatogene Infektion, also konsekutive Cystitis als Folge der Pyelitis, lymphogene Infektion, Durchwanderung durch die Darm-

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

wand oder sonst eine Theorie herangezogen werden, können das Zustandekommen der Pyelocystitis nicht restlos erklären.

Wenn wir nun bedenken, daß von der großen Zahl der Kinder, die eine Darmstörung durchmachen, nur einige wenige an Pyelocystitis erkranken, und daß weiter von vielen Kindern, welche unter den gleichen hygienischen Verhältnissen leben und keinen Darmkatarrh haben, nur ein geringer Bruchteil eine Pyelocystitis aquiriert, so müssen wir eine besondere Disposition bei den Erkrankten annehmen.

Es war der Gedanke naheliegend, ob nicht am Ende die Ursache im Erreger selbst gelegen sei, also ähnlich, wie es z. B. von der Spirochaeta pallida berichtet wird, daß neurotrope Stämme gefunden wurden, eine die Pyelocystitis verursachende „urotrope" Coli-Abart vorhanden sei, welche sich durch eine besondere Affinität zum Urogenitalsystem auszeichnet.

Die Klärung dieser Frage hoffte ich mit Hilfe der Agglutination zu erbringen. Zu diesem Zwecke wurde aus jedem Falle von Coli-Pyelocystitis ein Coli-Stamm durch das hygienische Institut herausgezüchtet[1]). Als Kriterien, ob das betreffende Bacterium wirklich ein Coli ist, wurde untersucht:

1) Färbbarkeit — gramnegatives, plumpes Stäbchen; 2) Traubenzuckeragar — Vergärung; 3) Milchzucker — Säurebildung; 4) Neutralrotagar — Fluoreszenz; 5) Milch — Gerinnung; 6) Indolreaktion — positiv.

Was die Beweglichkeit anbelangt, so waren von 16 „Cystitis-Coli"-Stämmen 11 unbeweglich und 5 schwach beweglich. Die gut-agglutinablen Stämme 2 und 4 waren unbeweglich, während die niemals agglutinablen Stämme 1, 8, 11, sowie die Stämme 14 und 17 schwache Beweglichkeit zeigten. Von den 8 Darm-Coli-Stämmen waren 5 unbeweglich, 3 schwach beweglich (bewegliche Stämme 18, 34, 37).

Als Kriterium, ob das betreffende Bakterium ein Coli ist, wurde die Beweglichkeit bzw. Unbeweglichkeit nicht verwertet, da nach den Befunden von Stöchlin, der unter 300 Coli-Stämmen 116 bewegliche und 184 unbewegliche fand, und desgleichen nach den Befunden von R. Jaffé, Venema u. a. die Inkonstanz der Beweglichkeit als erwiesen gelten muß.

Die Hoffnung, mit Hilfe der Agglutination die Frage, ob es ein „Cystitis Coli" gibt, zu klären, war keine sehr große. Die Untersuchungen von Achard-Bensaude, van der Velde, Wolf, Rottenberger, Jatta, Durham, sowie die neueren Untersuchungen von E. Meyer, Klieneberger u. a. haben ergeben, daß die Agglutination nicht zur Identifizierung oder Zugehörigkeitsbestimmung zu verwerten sei, und zwar auch nicht mit Hilfe eines polyvalenten Serums. Zugehörigkeit zur Coli-Gruppe könne man bei positivem Ausfall behaupten, bei negativem nicht ausschließen. Die schon von Escherich aufgestellte Hypothese, daß die Anpassung der infizierenden Coli-Stämme an den Organismus geradezu persönliche Coli-Rassen hervorgehen läßt, fand durch die Ergebnisse der Agglutination volle Bestätigung (Pfaundler, Wolf, Jehle u. a.).

Die Methodik, welche wir anwendeten, war folgende: Es wurden Verdünnungen von 1 : 10, 1 : 40, 1 : 160, 1 : 640 usw. hergestellt, und zwar betrug die ganze Menge der Serumkochsalzlösungmischung 0,6 ccm.

1) An dieser Stelle möchte ich dem Grazer Hygienischen Institute (Direktor Hofrat Dr. Prausnitz) und speziell Herrn Prof. Hammerschmidt für die große geleistete Arbeit meinen besten Dank aussprechen.

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle I.

Agglutination des Serums cystitiskranker Kinder mit dem aus dem Harn der Kranken gezüchteten Bacterium coli.

Coli-Stamm	Serum der Kranken																			
	1*	2	3	4	5	6	7	8*	9	10	11*	12	13	14	15	17	23	27	35	39
1	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	θ	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
2	.	1:160 +	1:40 +	1:40 +	1:40 +	1:40 +	1:640 +	.	1:160 +	1:40 +	.	1:40 +	1:10 + 1:40 ?	1:40 +	1:40 +	1:160 +	1:640 +	1:640 +	1:40 + 1:60 ?	1:40 + 1:160 ?
3	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	.	θ	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
4	.	1:160 +	1:40 +	1:160 +	1:160 +	1:40 +	1:40 +	.	1:40 +	1:40 +	.	1:40 +	1:40 +	1:10 + 1:40 ?	1:40 +	1:40 +	1:160 +	1:40 +	1:10 +	?
5	.	.	.	.	1:160 +	θ	θ	.	θ	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
6	.	.	.	.	.	θ	θ	.	1:40 +	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
7	.	.	.	.	.	1:40 +	1:640 +	.	θ	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
8	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
9	.	.	.	.	.	.	.	.	1:640 +	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
10	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	1:160 +	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
11	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	θ	?	θ	θ	θ	θ	θ	θ
15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	θ	?	?	θ	θ	θ	θ	θ
17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	θ	θ	θ	θ	1:160 +	θ	θ	θ	θ
23	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1:40 +	θ	θ	θ
35	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1:160+ 1:40?	?

Legende: Die Züchtung des Coli-Stammes aus dem Harne der Kranken 27 und 39 mißlang. Das Serum der Kranken 1*, das damit identische 8*, sowie das Serum 11* standen nicht zur Verfügung, da die kranken Fälle aus der Privatpraxis waren.

1) **Meyer, M.**
2) **Friedau.**
3) **Pachanegg.**
4) **Steinbauer ♂.**
5) **Sirk**
6) **Flakus.**
7) **Rauch.**
8) **Meyer, M.** (neu gezüchtet).
9) **Spadiot.**
10) **Pölzl.**
11) **Meyer, F.**
12) **Vadas.**
13) **Reiter**
14) **Pollitzer.**
15) **Muhry.**
17) **Groß.**
23) **Schadlbauer ♂.**
27) **Schütter ♂.**
35) **Bilbang ♂.**
39) **Märkt.**

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Dazu wurden 3 Tropfen einer 24 Std. alten, frisch abgeschwemmten Coli-Kultur zugesetzt. Anfangs wurden die Röhrchen 12 Std. im Brutschrank und dann noch 3—6 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das lange Stehen im Brutschrank hatte den Nachteil, daß oftmals eine diffuse Trübung des Röhrcheninhalts eintrat, welche Trübung das Ablesen der Reaktion wesentlich erschwerte. Im Laufe der Zeit stellte sich heraus, daß ein 3-stünd. Verweilen im Brutschrank und das 12-stünd. Stehenlassen bei Zimmertemperatur vollauf genüge. Wenn nach 3-stünd. Aufenthalt im Brutschrank keine Agglutination eingetreten war, trat eine solche nach unseren Erfahrungen auch nach 12—18-stünd. Aufenthalt nicht ein. Die 1. Ablesung erfolgte nach 15—18 Std., die 2. 24 Std. nach der 1. In Betracht kommende Unterschiede zwischen beiden Ablesungen wurden nicht bemerkt.

Agglutinationen wurden angestellt:

1) Mit den Seris Cystitiskranker Kinder und allen fallweise vorhandenen „Cystitis-Coli“-Stämmen. 2) Mit den Seris von mehr als 100 Kindern, welche wegen der verschiedenartigsten Krankheiten aufgenommen worden waren, jedoch keine Pyelocystitis hatten, wurden Kontrollagglutinationen vorgenommen.

Ueber die zur Kontrolle der beobachteten Agglutinationen vorgenommenen Tierversuche und ihre Ergebnisse werde ich in der nächsten Mitteilung berichten.

Bevor ich nun die Ergebnisse der Agglutinationen berichte, möchte ich klarlegen, was ich unter positiver Agglutination verstehe. Die Forderung, welche bei Dysenterie und Typhus gestellt wird, daß nämlich eine grobflockige Zusammenballung und Ausfällung der Keime eintrete, kann auch bei der Coli-Agglutination ebensowenig aufrecht erhalten werden wie bei Typhus und Dysenterie (Widowitz). Als positive Agglutination werte ich jede, auch feiner flockige Verklumpung und Ausfällung der Bakterien, welche sich dann beim Stehen in mehr oder weniger ausgesprochener Sternfigur am Boden des Gläschens niedersetzen und beim Wiederaufschütteln deutliche Flockenbildung aufweist. Bei Fällen von spurweiser Agglutination ist der Vergleich mit der Kontrolle sowie der Befund unter dem Agglutinoskop ausschlaggebend. Bei negativem Ausfall der Reaktion senken sich die Bakterien in einem Punkte an die tiefste Stelle des Gläschens, oder es bleibt eine diffuse Trübung bestehen.

Die Ergebnisse der Agglutination des Serums pyelocystitiskranker Kinder mit den aus dem Harn gezüchteten Coli-Stämmen bringt nachfolgende Tabelle.

Bei Betrachtung der Tabelle fällt als augenfälligste Tatsache auf, das sämtliche Sera den Coli-Stamm 2 und 4 agglutinieren, und zwar wird im allgemeinen der Stamm 2 besser agglutiniert als der Stamm 4 und es tritt die Agglutination in allen Fällen ein, während beim Stamm 4 eine fragliche Reaktion vorkommt.

Der erreichte Agglutinationstiter ist im allgemeinen kein hoher; von den 17 geprüften Seris agglutinieren den Stamm 2 eins (13) nur bei 1 : 10 sicher, 8 bis 1 : 40, weitere 2 bis 40 und fraglich bis 1 : 160, 3 bis 1 : 160 und nur 3 bis 1 : 640. Auffallend ist, daß der Stamm 2 von dem Serum des Patienten 2 nur bis 1 : 160 agglutiniert wird, während das Serum anderer cystitiskranker Kinder den für sie fremden Stamm bis 1 : 640 agglutiniert. Zu betonen ist jedenfalls die Tatsache, daß sämtliche zur Verfügung stehenden Sera den Stamm 2 und auch bis

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf eine Ausnahme den Stamm 4 agglutinieren, während z. B. Klemens und Mahler, die, ebenso wie Zupnik, für eine Gattungsspezifität des Serums bei Coli-Infektionen eintraten, nur 1mal in einem Falle von Coli-Sepsis ein Serum fanden, daß von 32 Stämmen 12 in der Verdünnung 1:40—1:400 agglutinierte, bemerkenswerterweise den eigenen Stamm nur in der Verdünnung 1:80. Diese Beobachtung ist der unserigen in bezug auf die relativ niedrige Agglutination des eigenen Stammes analog.

Es ist nun die Frage zu erörtern, kann eine Agglutination von 1:10 oder 1:40 als positiv gewertet werden, sind das nicht die ganz unberechenbaren Normalagglutinine, welche nach Beobachtungen verschiedener Autoren (Klieneberger, Geiße u. a.) noch in Verdünnungen von 1:2560 wirksam sein können, oder handelt es sich um „Restimmunagglutinine" (Widowitz).

Zur Entscheidung dieser Frage wurden bei mehr als 100 Kindern Agglutinationen ihres Serums mit dem am besten agglutinablen Stamm 2 vorgenommen, und nur in 3 Fällen positive Ergebnisse erzielt (2 × 1:10, 1 × 1:40), eine Zahl von der man wohl annehmen kann, daß die Kinder vor kürzerer oder längerer Zeit eine Coli-Pyelocystitis durchgemacht haben, um so mehr, da alle 3 Mädchen waren (Alter 6 Wochen, 5 und 8 Monate). Ebenso findet Kramer, daß die in den ersten Lebenswochen für das Bacterium coli gefundenen Normalagglutinine stetig abnehmen, um in dem 2.—3. Monat vollkommen zu schwinden. In einem 4. Falle, und zwar dem Kinde 39 unserer Tabelle, wurde bei der Agglutination ein Titer von 1:40 bzw. 1:160? erreicht. Das war auffällig, da der Patient ein ca. 10-jähr. Knabe war. Es wurde daraufhin der frisch gelassene Harn des Knaben sofort nochmals untersucht, und man fand im Zentrifugat spärliche Coli-Bakterien und Leukozyten.

Nach all diesem komme ich zu dem Schluß, daß unsere Agglutinationen, selbst wenn sie nur den Titer von 1:1—1:40 erreichen, als etwas spezifisches angesehen werden müssen. Es wäre doch ein höchst sonderbarer Zufall, wenn unter mehr als 100 Kontrolluntersuchungen nur 3 positiv ausfielen, während in 17 Fällen nachweisbarer Coli-Krankheiten sämtliche die Stämme 2 und 4 agglutinierten.

Kurz zusammengefaßt, sind die Ergebnisse der auf der Tab. I zusammengefaßten Agglutinationen: 1) Das Serum von 17 an Pyelocystitis erkrankten Kindern agglutiniert ausnahmsweise den Stamm 2, in 16 Fällen auch den Stamm 4. — 2) Bei 100 Kontrollagglutinationen des Serums nicht pyelocystitiskranker Kinder agglutinieren nur 3 Sera von Mädchen den Stamm 2.

Die widersprechenden Ergebnisse, welche die verschiedenen Autoren bei der Agglutination des Bact. coli fanden, sind wohl am besten damit zu erklären, daß man nur sehr selten Stämme findet, welche eine solch gute Agglutinabilität aufweisen, daß sie durch das Serum jedes an Pyelocystitis erkrankten Kindes agglutiniert werden. Auch kam mir das Glück zur Hilfe, denn ebensogut wie in diesem Falle der gut agglutinable Stamm der 2. zur Untersuchung gekommene ist, hätte er auch der 37. oder 100. sein können.

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Influenzabazillen als Eitererreger.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Herbert Lubinski,** Abteilungsleiter am Institut.

Im Gefolge der Grippe treten eine Reihe von Komplikationen auf, die als mit ihr in ursächlichem Zusammenhang stehend angesehen werden müssen. Die Literatur bietet hierfür eine Unzahl von Beispielen, die zu erwähnen weit über den Rahmen dieser Arbeit gehen würde. Geringer schon ist die Zahl derjenigen Veröffentlichungen, bei denen es gelungen ist, den zwar noch umstrittenen, aber doch von sehr vielen als Erreger der pandemischen Grippe angesprochenen Influenzabazillus nachzuweisen und so den ursächlichen Zusammenhang sicherzustellen.

Im Verlaufe der letzten Jahre sind nun im hiesigen Institut eine ganze Reihe von Influenzabazillenbefunden erhoben worden, die zum Teil eine so atypische Lokalisation zeigten, daß ich mich entschlossen habe, sie einer weiteren Oeffentlichkeit zu unterbreiten. Sind sie doch geeignet, die Anschauung von dem „harmlosen Saprophyten" zu widerlegen und eine Stütze für die Pfeiffersche Anschauung zu geben.

Daß derartige Befunde nicht häufiger erhoben werden, liegt wohl daran, daß 1) nur in einem geringen Prozentsatze eine bakteriologische Untersuchung des Eiters erfolgt, 2) aber in den Laboratorien nicht systematisch auf Influenzabazillen gefahndet wird.

Seitdem im hiesigen Institut jeder eingehende Eiter auch auf Levintal-Agar ausgestrichen wird, der sich uns als ein ausgezeichneter Nährboden erwiesen hat, haben wir eine ganze Reihe von Influenzabazilleninfektionen feststellen können, die sonst wohl kaum zur Beobachtung gekommen wären. Ich bin überzeugt, daß so mancher Fall, der dem Influenzabazillus zuzuschreiben ist, mit dem Vermerk „steril" das Labor verläßt, besonders dann, wenn die Zahl der Keime gering ist, so daß sie im Originalpräparat übersehen werden können.

Daß der Influenzabazillus Eiterungen an allen nur möglichen Stellen des Körpers hervorrufen kann, ist eine längst bekannte Tatsache und gleich nach der Entdeckung der Bazillen durch Pfeiffer festgestellt worden. Eine umfassende Zusammenstellung aller dieser Fälle bis zum Beginn dieses Jahrhunderts stammt von Perez.

Ich will mich daher nur mit der Literatur befassen, die nach der Perezschen Arbeit erschienen ist und verzichte weiterhin auf alle die Fälle, bei denen der Nachweis der Influenzabazillen nicht einwandfrei geführt ist, wobei ich diesen als erbracht ansehe, wenn es sich um gramnegative Stäbchen von typischem Aussehen und strenger Hämoglobinophilie handelt. Bei den von mir beschriebenen Fällen ist die Diagnose im letzten Jahre außerdem noch durch Agglutination mit spezifischen Sera erhärtet.

Eintrittspforte und Hauptsitz des Influenzabazillus im menschlichen Körper sind die Respirationsorgane, zu welchen sie wohl ausschließlich auf dem Wege der Tröpfcheninfektion gelangen. Da erscheint es auch nicht weiter verwunderlich, wenn sie aus den eitrigen Prozessen der Lunge durch Nekrotisierung der eine Scheidewand bildenden Pleura in die Brusthöhle gelangen und dort ihre Wirkung entfalten.

Der Nachweis im Empyemeiter ist häufig gelungen, und auch ich konnte eine Reihe derartiger Fälle beobachten, hauptsächlich in der Zeit, in der die Pandemie noch wütete. Auf diese Fälle einzeln einzugehen, erübrigt sich, sie stellen nichts Besonderes dar. Nur ganz kurz möchte ich Folgendes erwähnen: Abgesehen von zahlreichen Befunden an Leichenmaterial, konnten wir in 7 Fällen Influenzabazillen teils in Reinkultur, teils vergesellschaftet mit Strepto-, Staphylo- und Pneumokokken aus dem eingesandten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eiter herauszüchten. Bis auf einen kamen alle Fälle mit dem bereits ausgebildeten Empyem zur Behandlung, betrafen noch in kindlichem Alter stehende Personen und fallen in die Zeit der Pandemie. Der eine Ausnahmefall betraf einen 36-jähr. Mann, der seit 2 Jahren an einer Tbc. litt. Es muß dahingestellt bleiben, ob die Tuberkulose im Gefolge einer Grippe aufgetreten ist, oder ob die Influenzabazillen zu der bereits bestehenden Tbc. hinzugetreten und den tödlichen Ausgang beschleunigen halfen.

Allgemein bekannt ist auch die Möglichkeit einer Erkrankuug der Meningen durch Influenzabazillen. Hierüber hat aus dem hiesigen Institut anläßlich zweier von ihm beobachteter Fälle bereits Bender ausführlich berichtet, auf dessen Arbeit besonders bezüglich Literaturangaben verwiesen wird. Ich beschränke mich daher auf die Erwähnung derjenigen Publikationen, die nach Erscheinen der genannten Arbeit veröffentlicht worden sind.

So berichtet Kotz über 2 Fälle von Meningitis mit Influenzabefunden in Reinkultur: in dem einen Falle fanden sie sich außer in dem Eiter der Hirnhaut noch in der Pleura, in den Bronchien und im Mittelohr, in dem anderen außerdem noch im Liquor. Ferner berichten Rivers und Kohn über 13 Fälle von Influenzabazillen-Meningitis, Oeller über einen gleichen Befund bei einer 38-jähr. Frau, die geheilt wurde. Feer sah 2 Fälle eitriger Meningitis mit einem Reinkulturbefund von Influenzabazillen und Manson schildert den Fall eines 7 Mon. alten Säuglings, der gleichfalls an Hirnhautentzündung derselben Aetiologie zugrunde ging.

Als echte Influenzabazillen sind wohl auch die von Engering in 4 Fällen gefundenen Stäbchen anzusehen, die er als Influenza-ähnliche bezeichnet, da sie serologisch eine Sonderstellung einnehmen, d. h. von einem spezifischen Serum nicht agglutiniert wurden. Nun ist aber die Frage der Agglutination der Influenzabazillen noch nicht so weit geklärt, daß man aus dem Versagen der Reaktion derartige Schlüsse ziehen kann. Ich selbst habe mich mit der Serologie der Influenza befaßt, und es ist mir, wie ich glaube, gelungen, eine Methode zu finden, durch die es gelingt, fast alle auf Grund der sonstigen Kriterien als Influenzabazillen anzusprechende Stäbchen zur Agglutination zu bringen. Auf die gewöhnliche Art und Weise geht es meist nur mit den homologen Sera. Ausführliches darüber werde ich in Bälde veröffentlichen.

Endlich möchte ich noch die Arbeit von Reiche einer eingehenden Besprechung unterziehen. R. hat während der Pandemie 1918/19 die Lumbalflüssigkeit von 38 Patienten, die eine schwere Grippepneumonie hatten und von denen 29 meningeale, 9 echte meningitische Reizerscheinungen aufwiesen, untersucht. Von diesen 38 Patienten waren 2 Kinder unter 3 Jahren, 32 standen zwischen 14 und 29, 4 zwischen 30 und 52 Jahren. 21 Fälle verliefen letal. Er fand im Lumbalpunktat 2mal Pneumokokken und 1mal Streptokokken, in den restlichen 36 Fällen war der Liquor steril. Dahingegen hatte er in 2 Fällen aus dem Jahre 1917 — 10 Mon. alter Knabe und 22 Jahre altes Mädchen — reine Influenzabazillenmeningitis feststellen können.

Auf Grund dieser Befunde kommt er zu folgenden Schlüssen: „Diese beiden Fälle bestätigen die pathogene und eitererregende Eigenschaft der Influenzabazillen. Sie ereigneten sich in epidemiefreier Zeit. Dieser Umstand mit dem, daß bei unseren meningitisch verlaufenden echten Grippeerkrankungen bei schwer herrschender Epidemie niemals der Pfeiffersche Bazillus nachgewiesen werden konnte, spricht, ohne daß es noch weiterer Beweise bedürfte, ebenso sehr gegen den Influenzabazillus als Erreger der epidemischen Grippe wie das Vorkommen der reinen Influenzameningitis fast ausschließlich bei Kindern, insonderheit bei Säuglingen, wo doch die Neigung gerade der jugendlichen Erwachsenen, am stärksten der Infektion zu erliegen, zum mindesten den letzten Ausbrüchen das Gepräge gab."

Nun, es bedarf wohl noch weiterer Beweise, und zwar am besten positiver, die bis jetzt meines Wissens noch nicht erbracht sind. Eine ganze Reihe Autoren konnte während der Pandemie Influenzabazillen in den Meningen teils noch intra vitam teils bei der Sektion feststellen. Daß diese Befunde nicht mit 100-proz. Genauigkeit erhoben werden, diese Tatsache trifft nicht allein den Influenzabazillus, sondern das hat er wohl mit allen pathogenen Keimen gemeinsam. Ich erinnere nur an die Schwierigkeit der Meningokokkendiagnose. Des weiteren aber muß man besonders bei den nur mit leichten meningealen Reizerscheinungen einhergehenden Fällen auch an reine Toxinwirkung denken. Was nun die Häufigkeit der meningealen Infektion gerade bei Kindern gegenüber der Prädisposition des Mannesalters für die gewöhnliche Form der Grippe angeht, die ebenfalls als ein Beweis gegen die ätiologische Bedeutung des Influenzabazillus angeführt wird, so ist dem entgegenzuhalten, daß wenigstens in bezug auf die Mortalität nach von mir in Breslau angestellten statistischen Untersuchungen die Beteiligung des jüngsten Alters höher ist, als die irgendeiner anderen Altersstufe. Und warum sollten die Meningen im kindlichen Alter nicht besonders für den Influenzabazillus empfänglich sein? Mir scheinen die Schlußfolgerungen auf bedenklich schwachen Füßen zu stehen.

Generated on 2019-09-15 11:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Meine eigenen Beobachtungen erstrecken sich auf 5 Fälle, von denen 4 Säuglinge betrafen und während der Pandemie zur Beobachtung kamen.

Fall I.

5 Mon. alter Knabe kommt, am 4. Tage der Erkrankung, zur Beobachtung. Schwache meningitische Erscheinungen, Fontanelle gespannt, nicht vorgewölbt. Lumbalpunktion ergibt keine Druckerhöhung. Liquor sehr trübe, Pandy ++, Nonne ++.

Bakteriologischer Befund: Zahlreiche polynukleäre Leukozyten, massenhaft Influenzabazillen in Reinkultur.

Fall II.

8 Mon. altes, bisher glänzend entwickeltes Brustkind kommt in schwer krankem Zustande in die Klinik.

Untersuchung ergibt einen interlobären Prozeß. Terminale Krämpfe geben Veranlassung zu einer Lumbalpunktion, ohne daß meningitische Erscheinungen vorliegen. Bei starkem Druck wird trüher Liquor entleert, der denselben Befund wie Fall I aufweist.

Fall III.

6 Mon. altes schwächliches Mädchen, das mit meningitischen Erscheinungen zur Aufnahme gelangt. Es findet sich außerdem eine Schwellung des rechten Oberschenkels. Die Untersuchung der Lungen ergibt mäßige Bronchitis. Eine am 2. Tage vorgenommene Untersuchung des Lumbalpunktates zeigt die Anwesenheit von Influenzabazillen, die auch im Eiter eines tief liegenden Abszesses der rechten Gesäßseite, der beim Einspritzen von Serum angestochen wird, in Reinkultur gefunden werden.

Das Befinden des Kindes verschlechtert sich zusehends. 2 Tage vor dem Tode tritt eine Schwellung des rechten Handgelenks auf, die bakteriologisch nicht untersucht ist.

Fall IV.

Nähere klinische Daten waren nicht zu erlangen.

Die Untersuchung des eingesandten Lumbalpunktates zeitigte folgendes Ergebnis: Im Originalausstrich polynukleäre Leukozyten, Lymphozyten, gramnegative, zarte Stäbchen. Kulturell influenzaverdächtige Stäbchen, die ausschließlich auf Levintal-Agar wachsen, aber nur in einer Generation fortgezüchtet werden können.

Sämtliche Fälle endeten letal.

Aus dem Rahmen der geschilderten 4 Fälle fällt der letzte heraus, der im Laufe dieses Herbstes zur Beobachtung kam. Es handelt sich um einen 16 jähr. Jungen, der wegen einer durch Hufschlag erfolgten schweren Schädelverletzung in die chirurgische Klinik eingeliefert wurde. Die Verwundung geht bis auf die Dura, die ein großes Loch aufweist. Die ersten 2 Wochen verlaufen reaktionslos. Ganz plötzlich treten eines Morgens schwere meningitische Erscheinungen auf. Lumbalpunktion ergibt stark getrübten Liquor. Es erfolgt eine eingehende Revision der Wunde, täglich wird lumbalpunktiert und Urotropin intravenös gegeben. 6 Tage nach Beginn der Meningitis wird der Liquor zur bakteriologischen Untersuchung eingesandt. Es finden sich massenhaft polynukleäre Leukozyten und morphologisch als Influenzabazillen imponierende Stäbchen, die sich nicht züchten lassen (Wirkung des Urotropins?). Zur Sicherung der Diagnose wird mit dem Serum des Patienten ein Widal angestellt, der ein positives Ergebnis hat. 5 Stationsstämme werden bis zu einer Serumverdünnung von 1 : 160 agglutiniert. Die meningitischen Erscheinungen gingen im Laufe der nächsten Tage zurück. Patient wurde von seiner Meningitis völlig wiederhergestellt. Wegen der Wunden befindet er sich noch in Behandlung.

In diesem Falle dürften die Erreger vermutlich, wenn auch eine Infektion von außen her nicht von der Hand zu weisen ist, vom Nasen-Rachenraum des Patienten aus im Gefolge der Lymphbahnen zu den Hirnhäuten gelangt sein und dort einen Locus minoris resistentiae gefunden haben, der ihnen Gelegenheit zu pathogener Wirksamkeit bot.

Wenn ich, abgesehen von Fall 5, die Hauptmomente meiner Beobachtung zusammenfasse, so kann folgendes gesagt werden:

Es findet sich in allen Fällen in der Vorgeschichte oder im Beginn der Erkrankung eine grippale Infektion der Lungen: von dort aus sind

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Erreger vermutlich auf metastatischem Wege ins Gehirn gelangt, eine Tatsache, die besonders bei Kindern im jüngsten Alter vorzukommen scheint und von übelster Vorbedeutung für den Ausgang der Erkrankung ist.

Von diesen Fällen unterscheidet sich der 5. in folgenden Punkten:

1) durch das Alter des Patienten, 2) durch den Zeitpunkt der Erkrankung (epidemiefreie Zeit), 3) durch den Modus der Infektion und das Fehlen der Erscheinungen von seiten der Lungen und 4) durch den Ausgang in Heilung, der bei den seltenen Fällen einer Erkrankung älterer Personen häufiger zu sein scheint als bei Kindern.

Eine weitere Gruppe von Beobachtungen erstreckte sich auf Infektionen des Sehorgans und zwar beschränkt auf eine Beteiligung der Conjunctiva.

Ich möchte an dieser Stelle nicht auf die Streitfrage der Identität von Influenzabazillus und Koch-Weeks-Bazillus eingehen, die in der neueren Literatur wieder aufgerollt worden ist (Nestlinger, Pesch, Schmidt). Mir scheint ein Hauptdifferenzierungsmerkmal darin zu liegen, daß der K.-W.-B. nicht als streng hämoglobinophil anzusehen ist. Alle anderen Unterscheidungsmerkmale scheinen mir nicht zuverlässig genug zu sein, um darauf einen Beweis aufbauen zu können: insbesondere ist die Variabilität der Morphologie des Influenzabazillus nach unseren neueren Erfahrungen so beträchtlich, daß auf Unterschiede im mikroskopischen Aussehen dieser Bazillen eine Unterscheidung mit Sicherheit nicht möglich ist. Es will mir scheinen, als ob mancher einen K.-W.-B. vor sich zu haben geglaubt hat, der in Wirklichkeit ein Influenzabazillus war.

Ich habe den Influenzabazillus als vorliegend erachtet, wenn es nach mehrfachen Ueberimpfungen nicht möglich war, den fraglichen Bazillus auf Nährböden mit nativem Eiweißgehalt zum Wachstum zu bringen.

Die Zahl der von mir beobachteten Fälle beträgt 18, die ausschließlich Säuglinge und Kleinkinder betrafen, eine Tatsache, die mit der von Lindner geäußerten Anschauung, daß hauptsächlich das jugendliche Alter befallen wäre, übereinstimmt. Die Erkrankungen sind sämtliche ohne weitere Komplikationen zur Ausheilung gekommen. Zeitlich fallen sie bis in die jüngste Zeit, in der ich Gelegenheit hatte, ein endemisches Auftreten in einem Zimmer des Säuglingsheims zu beobachten.

Infektionen des Augapfels selbst sind nicht zu meiner Beobachtung gelangt: daß sie vorkommen, steht außer allem Zweifel. Eine ganze Reihe derartiger Fälle beschreibt Tschirkowsky (Keratitis, Orbitalphlegmone), Doetsch (Ulcus serpens), Rosenhauch (Keratitis), Kitagatu (Hornhautgeschwür), Axenfeld sowie Messerschmidt (Panophthalmie).

Die interessantesten Befunde aber dürften sich in der folgenden Zusammenstellung finden, die ich unter dem Namen chirurgische Komplikationen, zu denen allerdings auch die anfangs beschriebenen Empyeme gehören, zusammenfassen möchte, da sie sämtlich Veranlassung zu chirurgischen Eingriffen gegeben haben. Derartige Befunde sind ja auch schon des öfteren erhoben worden. So kamen mehrfach Erkrankungen der Gelenke und Abszeßbildungen zur Beobachtung. Ein Fall ist bereits weiter oben bei den Meningitiden aufgeführt. Der zweite kam mit einer Schwellung in der linken Hüftgegend in Behandlung. Durch Punktion wurde massenhaft gelber Eiter gewonnen, der zahlreiche Influenzabazillen aufwies. Röntgenologisch wurde ein Erguß im linken Hüft-

Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

gelenk und eine Subluxation festgestellt. Auf Inzision des Abszesses zeigte sich eine gute Heilungstendenz. Hinzutretende Streptokokkensepsis bei Erysipel führte Exitus herbei. Die Sektion ergab: Bronchopneumonische Herde in beiden Unterlappen. Bei Eröffnung des Hüftgelenks entleeren sich reichliche Mengen blutig-seröser Flüssigkeit. Die Pfanne ist abgeflacht, der Knorpel des Femurköpfchens zerfasert, der Knochen entzündlich gerötet. Das Knochenmark zeigt im Originalausstrich Influenzabazillen und Streptokokken. Ich glaube, in der Annahme nicht fehl zu gehen, wenn ich die Arthritis auf die Anwesenheit der Influenzabazillen zurückführe, da ja die Streptokokken erst später wohl hinzugetreten sind.

Gelenkaffektionen im Gefolge der Grippe sind ja sehr häufig, meistens klingen sie bald ab. Positive Influenzabazillenbefunde werden angegeben von Fraser (eitrige Entzündung des Kniegelenks bei einem 6 Mon. alten Mädchen ohne sonstige Komplikationen) und von Pacchioni und Longo.

Reine Weichteilabszesse konnten 2mal auf Influenzabazillen zurückgeführt werden. Der eine Fall ist bereits von Schmeil aus der chirurgischen Klinik publiziert worden. Sitz der Abszesse war in der rechten und linken Orbita über dem Bulbus. Der 2. Fall betraf ein 1 Jahr altes Kind mit einem Abszeß an der linken Schulter, der inzidiert wurde. In einem weiteren Falle wurden Influenzabazillen aus einem parotitischen Abszeß gezüchtet, der nach Spaltung glatt verheilte.

Weiterhin kam noch ein Fall von Cholecystitis zur Beobachtung: wegen der großen Seltenheit lasse ich die genaue Krankengeschichte folgen:

37-jähr. Frau, die im vergangenen Jahre eine schwere Grippe durchgemacht hat, an der mehrere Familienmitglieder gestorben sind. Im darauffolgenden letzten Winter litt sie an Gelenkrheumatismus. Vor mehreren Wochen hatte sie mehrfach heftige Schmerzanfälle, die mit Gelbfärbung einhergingen, im ganzen bisher 6—7mal. Der letzte Anfall war wenige Tage vor der Aufnahme in die Klinik.

Befund: Mittelgroße, kräftige Frau in gutem Ernährungszustande, Haut und Schleimhäute zeigen ikterische Verfärbung.

Dicht unter dem rechten Rippenbogen sehr starke Druckempfindlichkeit. Man fühlt eine unklare, sehr schmerzhafte Resistenz, die der Leber anzugehören scheint; von letzterer ist jedoch kaum der Rand zu palpieren. Nach einige Tage lang dauernder Beobachtung, während der abermals ein Gallensteinanfall auftritt, wird operiert. Die Gallenblase trägt Zeichen chronischer Entzündung und ist prall mit Steinen gefüllt. Nach Unterbindung des Ductus cysticus wird die Blase entfernt und der Inhalt zur bakteriologischen Untersuchung übersandt. Diese ergibt eine Reinkultur von Influenzabazillen. Die mit dem Serum der Patientin angestellte Agglutination hatte mit dem Eigenstamm in einer Verdünnung bis zu 1 : 320 mit 5 verschiedenen Stationsstämmen bis 1 : 160 ein positives Resultat. Nach normalem Wundverlauf wird die Patientin geheilt entlassen.

Der Fall zeigt in schöner Weise den Zusammenhang einer gewöhnlichen Grippe mit einer spät auftretenden seltenen Komplikation. Die im Körper verbliebenen Bazillen, denen ich auch die Schuld an den rheumatischen Erscheinungen zuschreiben möchte, haben sich in der Gallenblase festgesetzt und durch chronische Reizung den Anlaß zur Bildung von Gallensteinen gegeben. Es wäre allerdings auch möglich, daß die Influenzabazillen in der bereits entzündeten Gallenblase eine gute Möglichkeit ihrer Ansiedelung gefunden haben. Da aber in der Vorgeschichte keinerlei Angaben über diesbezügliche Erscheinungen vor der Grippeerkrankung zu finden sind, so glaube ich doch einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Cholecystitis und den Influenzabazillen annehmen zu dürfen, der durch den serologischen Befund noch erhärtet ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein ähnlicher Befund ist meines Wissens bisher nur von Klieneberger, Knina, Heyrowski und Weil erhoben worden.

Ich hatte dann weiter die Möglichkeit, einmal Influenzabazillen aus dem Blute züchten zu können. Da aber dieser Befund kurz ante exitum erhoben wurde, so glaube ich, daß es sich um eine agonale Erscheinung handelt, wie sie des öfteren beobachtet worden ist.

Einen Influenzabazillenbefund im Urin möchte ich nur erwähnen, da dieser Fall von anderer Seite eingehender besprochen werden wird.

Diese meine Beobachtungen bieten nun zwar nichts grundsätzlich Neues, sie sind aber doch wohl geeignet, mit zur Klarheit über die Bedeutung des Influenzabazillus beizutragen. Wir haben gesehen, daß das Pfeiffersche Stäbchen vielleicht häufiger, als man im allgemeinen glaubt, in der Lage ist, auch ohne die Mithilfe der gewöhnlichen Eiterspaltpilze Entzündungen und Eiterungen zu erregen in den verschiedensten Teilen des menschlichen Körpers. Wenn auch nicht in allen Fällen eine vorangegangene Grippe mit Sicherheit festgestellt werden konnte, so ist sie doch mit einer großen Wahrscheinlichkeit anzunehmen. Vom Respirationstraktus, ihrer Prädilektionsstelle, sind dann die Bazillen auf metastatischem Wege an die verschiedenen Punkte ihrer Auffindung gelangt. Diese metastatische Verschleppung tritt besonders deutlich bei dem in der Reihe der Meningitiden geschilderten Fall 3 hervor.

Es bestätigt sich also der von Perez auf Grund seiner klinischen und experimentellen Studien aufgestellte Satz: „Der Bazillus Pfeiffer behält unter den eitererregenden Mikroorganismen eine der hervorragendsten Stellen."

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, all den Kollegen meinen Dank auszusprechen, die mir durch Uebermittelung der klinischen Daten ihre Unterstützung in liebenswürdigster Weise haben zu teil werden lassen.

Literaturangaben.

1) Axenfeld, Ref. nach Tschirkowsky. — 2) Bender, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. — 3) Doetsch, Ref. nach Tschirkowsky. — 4) Engering, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. — 5) Feer, Korrespondenzbl. f. Schweizer Aerzte. 1919. Nr. 30. — 6) Fraser, Lancet 1911; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 53. — 7) Kitagatu, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 53. — 8) Klieneberger, Dtsch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 15. — 9) Knina, Ref. nach Scheller in Kolle-Wassermann. — 10) Kotz, Berlin. klin. Wochenschr. 1921. S. 413. — 11) Levintal, Ergebn. d. allg. Pathol. usw. Jahrg. 19. — 12) Lindner, Arch. f. Ophthalm. Bd. 105. — 13) Lubinski, Unveröffentl. Arb. (erscheinen im Centralbl. f. Bakt.) — 14) Manson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 75. — 15) Messerschmidt, Hundshagen u. Scheer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 88. — 16) Nestlinger, Kl. Mon. f. Augenh. Bd. 61. — 17) Oeller, Med. Klin. 1918. Nr. 44. — 18) Pacchioni u. Longo, Ref. nach Späth, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. — 19) Perez, Dtsch. Ztschr. f. Chir. Bd. 59 ff. — 20) Pesch, Münch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 13. — 21) Reiche, Dtsch. Ztschr. f. Nervenheilk. Bd. 68/69. — 22) Rivers u. Kohn, Journ. of exp. Med. 1921. — 23) Rosenhauch, Ref. nach Tschirkowsky. — 24) Schmeil, Dissert. a. d. chir. Universitätsklin. Breslau. — 25) Schneider, Arch. f. Hyg. Bd. 93. — 26) Tschirkowsky, Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 49. — 27) Weil, Ref. nach Scheller in Kolle-Wassermann.

Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Pathogenität des Diplococcus mucosus Lingelsheim.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat. Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Herbert Lubinski,** Abteilungsleiter am Institut.

Die bakteriologische Erforschung der Meningitiden hat uns die Erkenntnis gebracht, daß das klinisch einheitliche Bild der Meningitis durch die verschiedenartigsten Erreger hervorgerufen werden kann. Außer den epidemisch auftretenden Meningokokken und den Tuberkelbazillen sind im Laufe der letzten Jahre noch zahlreiche andere Erreger der Hirnhautentzündung nachgewiesen worden, die zum Teil bereits als pathogen bekannt sind, wie Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken, Influenzabazillen, zum Teil aber als Saprophyten gelten und nur unter besonderen Umständen zu pathogener Wirkung gelangen: Micrococcus catarrhalis, Diplococcus flavus, Micrococcus tetragenus u. a.

Gelegentlich der Genickstarre-Epidemie in Oberschlesien hat Lingelsheim 1906 bei der Untersuchung von Rachenabstrichen einen dem Meningococcus morphologisch ähnlichen Diplococcus gefunden, den er wegen der zähschleimigen Beschaffenheit seiner Kolonien Diplococcus mucosus nannte. Einmal wurde er von ihm im Lumbalpunktat eines Pneumonikers gefunden; über die ätiologische Bedeutung dieses Befundes äußert sich L. in seinem Berichte nicht.

In den folgenden Jahren, in denen mit der weiten Verbreitung der Lumbalpunktionstechnik auch die bakteriologische Untersuchung des Liquors an Häufigkeit stark zunahm, sind dann mehrere Veröffentlichungen erfolgt, in denen diesem Diplococcus mucosus, teilweise unter anderem Namen, die Rolle eines Krankheitserregers zugesprochen wurde.

Lingelsheim gibt in seiner 1. Veröffentlichung folgende Beschreibung:

Der Coccus ist gramnegativ und tritt im Originalpräparat in Form von feinen Diplokokken und Tetraden auf, die denen des Meningococcus außerordentlich ähnlich sind. Doch tritt bei Benutzung der Blende eine deutliche Kapsel auf. Innerhalb der Eiterzellen wurde er nie bemerkt.

Auf den gewöhnlichen Nährböden wächst er in üppigen 3—4 mm breiten, runden, leicht konfluierenden Kolonien, die grau durchscheinend und von saftig-viszider Beschaffenheit sind.

Weitere Veröffentlichungen von anderer Seite folgten, die sich mit den Eigenschaften dieses Mikroorganismus näher befaßten und seine Bedeutung als Krankheitserreger feststellten. Stephan berichtete als erster über eine größere Zahl von Erkrankungen, die er im Felde gesehen hat und auf Grund des gleichen klinischen Krankheitsbildes und des gleichen Erregers, den er züchten konnte, als Endemie ansieht. Der Krankheitsverlauf wird folgendermaßen geschildert: akuter Beginn mit heftigen Kopfschmerzen, hochgradige Empfindlichkeit gegen Berührung und passive Bewegung, Nackensteifigkeit, Herpes labialis und Schüttelfröste. In einer großen Anzahl der Fälle trat auch eine hämorrhagische Nephritis auf. Die Untersuchung des Liquors, die bei den ersten untersuchten Fällen erst im späteren Verlauf der Erkrankung erfolgte, zeigte eine außerordentliche Druckerhöhung, die Anwesenheit spärlicher zellulärer Elemente und das Fehlen von Mikroorganismen. Bei 19 Fällen hingegen, die bereits kurz nach Auftreten der ersten Erscheinungen in Behandlung des Beobachters kamen, fanden sich im Liquor teils intra-, teils extrazellulär gelagerte Kokken. Die zellulären Elemente traten hinter den Bakterien an Zahl sehr stark zurück. 16mal war der Liquor klar, 3mal war er durch die Menge der darin enthaltenen Kokken getrübt. Die Krankheit charakterisierte sich also klinisch als akut fieberhafte Allgemeinerkrankung mit Meningismus ohne entzündliche Beteiligung der Meningen. Sie wird von Stephan aufgefaßt als Bakteriämie mit Metastasen in Nieren, Haut und Meningen. Die weitere bakteriologische Differenzierung, ausgeführt von Harzer und Langer,

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

läßt nach der von ihm gegebenen Schilderung die Identität dieser Kokken mit dem Diplococcus mucosus annehmen. 2 Jahre später fand Stephan bei einer klinisch als Influenza imponierenden Endemie in Leipzig Kokken, die er als mit den eben geschilderten zwar nicht identisch, aber doch verwandt bezeichnet. Er führt für diese den Namen Diplococcus mucosus Leipzig ein. Unter den zahlreichen Fällen, die er beobachtete, waren 6, bei denen eine hämorrhagische Nephritis auftrat; 3 andere wiesen einen ausgesprochenen Meningismus auf, und bei 9 gelang eine Züchtung aus dem Liquor. In allen Fällen konnte der Coccus aus dem Blut, in zahlreichen außerdem aus Sputum wie von den Schleimhäuten der oberen Luftwege kulturell gewonnen werden. Stephan hält ihn für einen neuen Infektionserreger bei epidemischer Influenza (?). Das klinische Bild wurde bei den Kindern beherrscht von einer ausgebreiteten Bronchitis, während bei Erwachsenen starker Schnupfen im Vordergrund der Erscheinungen stand. Der Verlauf der Erkrankung war bei allen Patienten gutartig.

Noch in demselben Jahre berichtete Pollag über einen Fall, der zuerst als Influenza angesprochen — auch die übrigen Familienmitglieder waren gleichzeitig an „Influenza" erkrankt — unter dem Bilde einer schweren Meningitis rasch zum Tode führte. Auch hier konnten aus dem Liquor, der unter erhöhtem Druck — 300 mm Wasser — stand, blutig tingiert war und eine auffallend große Zahl neutrophiler Leukozyten und Kokken aufwies, Mikroorganismen gezüchtet werden, die mit dem Mucosus identisch zu sein scheinen. P. berichtet weiter über einen Fall von tuberkulöser Meningitis, bei dem durch Hinzutreten des Diplococcus mucosus ganz akut eine rasch zum Tode führende Verschlechterung des Befindens eintrat. In einem 3. Fall, dessen klinische Symptome hauptsächlich in Kopfschmerzen bestanden, ergab die nach kurzem Krankheitsverlauf ausgeführte Sektion eine eitrige Meningitis cerebri. Die Rückenmarkshäute zeigten normale Beschaffenheit. Der Liquor war vermehrt und getrübt. Im Lungensaft, Meningeal- und Kieferhöhleneiter wurde der Diplococcus mucosus ebenfalls festgestellt. P. hält ihn in allen 3 Fällen für das ätiologische Agens.

Weitere Beobachtungen stammten von Lüdke, der in 4 klinisch als Meningitis angesprochenen Fällen, bei denen mit Sicherheit Kontaktinfektion anzunehmen war, den Mucosus in Reinkultur aus dem Liquor züchten konnte. Die Lumbalflüssigkeit war in allen Fällen klar, ohne zelluläre Beimengungen. L. schreibt dem Diplococcus eine besondere Affinität zur Haut, den Meningen und den Nieren zu.

Ferner schildert Reuß den Fall eines 8jährigen Knaben, bei dem es im Anschluß an ein Kopftrauma zu einer Meningitis kam. Die letzte Veröffentlichung, die ich in der mir zugänglichen Literatur finden konnte, ist von Frenzel. Hier handelte es sich um eine Meningitis, die im Anschluß an eine intralumbale Tetanusantitoxininjektion entstand. Der Liquor war eitrig und enthielt außer sehr zahlreichen polynukleären Leukozyten viele Kokken, die als Diplo- und kurze Kettenkokken meist extrazellulär gelagert waren. Auch in den letztgenannten Fällen ist der Diplococcus mucosus nachgewiesen worden.

Eigene Beobachtung.

Die bisher verhältnismäßig geringe Zahl von Veröffentlichungen läßt es gerechtfertigt erscheinen, über 3 Fälle zu berichten, die ich in jüngster Zeit zu beobachten Gelegenheit hatte.

Fall I (Stat. Nr. 3032).

Nach den mir vom behandelnden Kollegen gemachten Angaben handelte es sich um ein 2½ Jahre altes, sehr elendes Kind, das in stark benommenem Zustande in Behandlung kam. Es wurde zunächst eine alimentäre Intoxikation angenommen und wegen Durchfall unter anderem mit Eiweißmilch behandelt. Da die Frage, ob Meningitis oder Intoxikation zu entscheiden war, wurde von einem zugezogenen Spezialarzt Lumbalpunktion ausgeführt. In der darauffolgenden Nacht starb das Kind. Erscheinungen von seiten des Respirationstraktus wurden nicht beobachtet. Auch waren in der Familie des Kindes Erkrankungen nicht festzustellen.

Die von mir ausgeführte Untersuchung des Lumbalpunktates ergab folgenden Befund: Liquor wasserklar; das durch scharfes Zentrifugieren gewonnene Sediment zeigt in nach Gram gefärbtem Ausstrichpräparat fast gar keine zellulären Beimengungen, dagegen zahlreiche Kokken, einzeln als Diplokokken und Tetraden gelagert; deutlich ist besonders bei Abblendung, eine Kapsel zu sehen. Größe und Form der Gebilde waren recht verschieden und erinnerten an die Involutionsformen der Meningokokken. Die Größenunterschiede betrugen bis zum 6fachen der

Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

kleinsten Individuen, manche machten den Eindruck plumper, ovoider Kurzstäbchen. Die Färbbarkeit nach Gram war nicht einheitlich; neben völlig entfärbten waren auch solche Kokken zu sehen, die der Einwirkung des Alkohols stärkeren Widerstand geleistet hatten.

Die kulturelle Untersuchung zeitigte auf sämtlichen benutzten Nährböden üppiges Wachstum der im Originalpräparat gefundenen Kokken. Weitere Untersuchungen konnten nicht vorgenommen werden, da Patient verstarb und Sektion nicht gestattet wurde.

Fall II (Stat. Nr. 3133, 3145—47).

Auch in diesem Falle handelte es sich um ein Kind. Die mir von Herrn Prof. Mann freundlichst zur Verfügung gestellte Krankengeschichte ist folgende:

Der 4 Jahre alte Knabe Gerhard I. wurde am 11. Sept. 1923 in bewußtlosem Zustand in die Nervenabteilung des St. Georg-Krankenhauses eingeliefert. Nach Angabe der Eltern war das Kind früher schwächlich, bis jetzt aber immer gesund. Vor 14 Tagen erkrankte es an Kopfschmerzen, Mattigkeit und Appetitlosigkeit, vor 8 Tagen trat wiederholt heftiges Erbrechen ein, zunehmende Schwäche, seit gestern früh bewußtlos. Fieberhafte, katarrhalische Erkrankungen in der Umgebung sind nicht bekannt.

Befund bei der Einlieferung: Mageres, blasses Kind, Leib stark eingezogen, Augen geöffnet, Pupillen reagieren, keine Reaktion auf Nadelstiche, starke Spasmen an allen Extremitäten, Unterarme gebeugt, beide Beine an den Körper angezogen, erheblicher Widerstand bei passiven Bewegungen, Sehnenreflexe gesteigert, beiderseits Flußklonus, links Babinski positiv, Kernigsches Phänomen beiderseits vorhanden, aber keine Nackensteifigkeit. Puls sehr stark beschleunigt und klein, jagend, 160—180 in der Minute. Ueber den Lungen einige diffuse und bronchitische Geräusche; keine Hauterscheinungen, kein Exanthem, kein Herpes.

12. Sept. Lumbalpunktion: Es wird ca. 10 ccm klare Flüssigkeit entleert, die unter mäßigem Druck abfließt, Sensorium nachher vorübergehend etwas aufgehellt, reagiert auf Anruf, spricht einige unverständliche Worte, Abendtemperatur wie am vorigen Tage 38°.

13. Sept. wieder völlig bewußtlos, schluckt aber in den Mund gebrachte Flüssigkeiten. Es treten fast dauernd tonisch klonische Krämpfe sämtlicher Extremitäten auf, nur mit kurzen freien Intervallen; keuchende Atmung, gerötetes Gesicht. Temperatur abends 39,5. Keinerlei Reaktion auf Anrufen oder Nadelstiche, starkes Anheben der Beine erschwert, dabei stöhnende Laute; keine Nackensteifigkeit.

14. Sept. Unveränderter Zustand. Abendtemperatur 39°.

15. Sept. Die tonisch-klonischen Krämpfe sind wieder sehr heftig; starker Trismus, so daß die Mundöffnung nur mittels Heisterscher Klemme möglich ist. Trismus verschwindet im Laufe des Nachmittags. Nackensteifigkeit ist heute angedeutet, auch Opisthotonus. Nochmalige Lumbalpunktion, Liquor wiederum völlig klar, stark beschleunigte Atmung, zeitweise an Cheyne-Stockessches Atmen erinnernd; sehr starke Pulsbeschleunigung, Temperatur bis 39 ansteigend; abends erfolgt Exitus.

Bakteriologisch untersucht wurde 2mal die Lumbalflüssigkeit, ein Abstrich von der hinteren Rachenwand und den Tonsillen und Venenblut. Weitere Untersuchungen waren unmöglich, da Sektion verboten wurde.

Der bezüglich des Lumbalpunktates erhobene Befund deckt sich mit dem oben geschilderten. Allerdings handelte es sich hier nicht um eine Reinkultur des Diplococcus mucosus, sondern es fanden sich daneben noch vereinzelte Staphylokokken und grampositive Stäbchen vom Typ der Pseudodiphtheriebazillen. Ob es sich um eine Mischinfektion oder um bei der Lumbalpunktion von der Haut der Einstichstelle in den Liquor hineingelangte Verunreinigungen handelt, kann mit Sicherheit nicht gesagt werden. Für letztere Annahme spricht die geringe Zahl der gefundenen Keime, die erst durch das Kulturverfahren nachgewiesen werden konnten, und der Umstand, daß sie sich nur bei der Untersuchung des zuerst übersandten Liquors fanden. Besonders aus diesem Grunde möchte ich daher dieser Ansicht zuneigen. Es ist aber auch die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß diese Keime gleichzeitig mit dem Erreger in die Hirnhaut gelangt sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieselben gramnegativen Kokken konnten dann im Abstrich von der hinteren Rachenwand und den Tonsillen nachgewiesen werden. Die Untersuchung des Blutes ergab völlige Sterilität. Dagegen agglutinierte das Patientenserum mit sämtlichen zur Verfügung stehenden Stämmen — 1 Stamm Fall 3032, 3 Stämme aus vorliegendem Fall (2 aus Liquor, 1 aus Rachen) — bis zu einer Verdünnung von 1 : 80, während die Prüfung mit mehreren Meningokokkenstämmen völlig negativ verlief.

Fall III (Stat. Nr. 2361 ff.).

Dieser Fall konnte einer eingehenderen Untersuchung unterzogen werden, da er sich in stationärer Behandlung der chirurgischen Universitätsklinik befand, die mir in dankenswerter Weise folgenden Auszug aus der Krankengeschichte überlassen hat.

Anamnese o. B.

Status: 46 Jahre alter, in gutem Ernährungszustande befindlicher Mann, der wegen eines Kleinhirntumors am 6. und 13. Okt. operiert wird. Wenige Tage nach der 2. Operation tritt infolge Facialislähmung Lagophthalmus ein, auf dessen Grundlage sich ein perforierendes Ulcus corneae bildet, das weiterhin zur Panophthalmie führt. Am Rande der Operationswunde entsteht allmählich eine Liquorfistel.

In den ersten Tagen nach der Operation war das Allgemeinbefinden des Pat. verhältnismäßig gut; nach 10 Tagen jedoch kommt es zu dauernden Temperaturerhöhungen mit Erscheinungen von Meningismus (Nackensteifigkeit und Benommenheit); Lumbalpunktion ergibt gelblich-xanthochromes, trüb-eitriges Punktat, dessen letzte Tropfen blutig sind.

Die von mir vorgenommene Untersuchung des Punktates zeigte im Originalausstrich massenhaft polymorphkernige Leukozyten und das schon bekannte Bild gramlabiler Kokken, teils extra-, teils intrazellulär gelagert. Kulturell: Reinkultur des Diplococcus mucosus. Eine 48 Std. später vorgenommene Wiederholung der Liquoruntersuchung zeigt eine leicht getrübte, blutige Flüssigkeit, in der in der Hauptsache Erythrozyten und Diplokokken zu finden sind, die sich zum großen Teil im Zerfallsstadium befanden. Die kulturelle Untersuchung ergab Sterilität. Als Grund hierfür stellten sich unterdessen reichlich verabfolgte intravenöse Urotropingaben heraus. Das letzte Punktat, am folgenden Tage wenige Std. ante exitum entnommen, war völlig klar, zeigte gar keine zellulären Beimengungen und dasselbe Bakterienbild, wie eben geschildert. Kulturell ebenfalls Sterilität.

Die Untersuchung des Blutes, vorgenommen 8 Tage nach Beginn der meningitischen Erscheinungen, hatte kulturell und serologisch ein negatives Ergebnis. Dagegen fand sich im Abstrich von der Tonsille und der hinteren Rachenwand außer anderen Bakterien reichlich Diplococcus mucosus.

Die Sektion zeitigte insofern ein überraschendes Resultat, als makroskopisch und mikroskopisch nichts von einer Meningitis festzustellen war. Fast die ganze linke Kleinhirnhemisphäre ist im Zerfall begriffen. In der Nähe der Operationswunde erscheinen die Zerfallsmassen schmierig-eitrig belegt. Im übrigen zeigten sich keine Beläge auf der Pia. Die Sektion des Gehirns läßt keine Besonderheiten erkennen. Die histologische Untersuchung der linken Kleinhirnhemisphäre zeigt einen Gewebszerfall, der bis in das Brachium pontis hineinreicht. In den Grenzgebieten nach dem Gesunden zu finden sich perivaskuläre Zellinfiltrate, sonst keine entzündlichen Veränderungen. Der übrige Sektionsbefund o. B.

Bakteriologisch konnte in den Zerfallsmassen der Diplococcus mucosus gleichfalls nachgewiesen werden.

Betrachtet man die in der Literatur veröffentlichten und die von mir beobachteten Fälle vom klinischen Standpunkte, namentlich unter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Berücksichtigung der Liquorbefunde, so fällt besonders auf, daß in einem Teil (Reuss, Frenzel, Pollag) das klinische Bild mit den für entzündliche Vorgänge sprechenden Lumbalbefunden übereinstimmt und bestätigt wird durch das Sektionsergebnis. Dagegen ist die Beschaffenheit des Liquors in chemischer und zytologischer Hinsicht in den Fällen von Lüdke und Stephan beinahe normal. Auf pathologische Veränderungen weist außer dem bakteriologischen Befund nur der mehr oder minder erhöhte starke Druck hin. Allerdings unterscheiden sich die Fälle von Lüdke und Stephan von den erstgenannten auch durch ihren günstigen Verlauf.

Die von mir beobachteten Fälle stimmen bezüglich des Liquorbefundes mit den von Lüdke und Stephan bekannt gegebenen überein, unterscheiden sich aber von ihnen durch den letalen Ausgang. Klinisch wurden die beiden Kinderfälle als Meningitiden aufgefaßt; leider sind Untersuchungen über die chemische Beschaffenheit des Liquors hier ebensowenig angestellt worden, wie in dem dritten Fall. Da auch keine Sektion ausgeführt worden ist, kann eine sichere Entscheidung nicht gefällt werden. Den merkwürdigsten Befund aber bietet Fall Nr. 3. Während das zuerst entnommene Punktat trüb-eitrig war, und zahlreiche polynukleäre Leukozyten enthält, erweist es sich bei der 2. und 3. Untersuchung als klar, bei Fehlen jeglicher pathologischer Zellvermehrung. Die Sektion läßt nichts von einer Meningitis erkennen. Ich möchte daher die Leukozytose als eine post-operative Reizerscheinung auffassen. Mit dieser Annahme kann man den Unterschied zwischen den Ergebnissen der linken Lumbalpunktion einerseits und der 2. und 3. andererseits einigermaßen erklären und unter dieser Voraussetzung stimmt auch dieser Fall mit den beiden anderen bezügl. der Lumbalbefunde überein.

Wir haben also eine intralumbale Infektion mit ausgesprochenen klinischen Entzündungserscheinungen und Fehlen der sonst bei purulenter Meningitis (Ausnahme Tuberkulose) doch fast immer zu beobachtenden schweren entzündlichen Veränderungen.

Hatte das mikroskopische Bild der aus dem Zentrifugat der Lumbalpunktate angefertigten Originalpräparate den Verdacht, daß es sich um Meningokokken handelt, aufkommen lassen, so wurde dieser durch das kulturelle Verhalten bald beseitigt. Das Wachstum war, wie schon gesagt, auf sämtlichen Nährböden, auch den von nativem Eiweiß freien, äußerst üppig. Der Kulturrasen zeigte ein weißlich glänzendes Aussehen. Die Einzelkolonie ist flach, mit glattem kreisrunden Rand. Bei mikroskopischer Betrachtung sieht man ein bräunliches Zentrum, das von einem hellen glasigen Saum umgeben ist. Bei längerem Bebrüten kommt es zu einem Konfluieren der zunächst einzelnen Kolonien, wobei die starke Schleimbildung besonders gut in Erscheinung tritt. Die von den Kulturen angefertigten Präparate zeigten, besonders nach mehrfacher Ueberimpfung, eine Abnahme der morphologischen Unterschiede; vor allem wurde das Verhalten gegenüber der Gramfärbung einheitlich negativ.

Bei Züchtung in Bouillon wurde diese gleichmäßig getrübt. Allmählich bildete sich ein dicker Bodensatz, der sich beim Schütteln nicht verteilt, sondern in Form einer Spirale erhebt.

Gelatine wurde nicht verflüssigt (im Gegensatz zu den Angaben von Harzer und von Lüdke). In der Stichkultur findet ein gutes Wachstum nur in den obersten Schichten statt. In Gelatineplatten zeigte ein Teil der Oberflächenkulturen eine stark gezackte, polypenartige Form, die an Größe die runden Kolonien um ein Vielfaches übertraf.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei Betrachtung im durchfallenden Licht zeigten diese Kolonien eine starke Opaleszenz.

Gaskildung und Hämolyse waren nicht zu beobachten.

Die Prüfung auf die Fähigkeit der Zuckervergärung wurde sowohl auf festen wie in flüssigen Nährböden vorgenommen, da sich gelegentlich zwischen diesen beiden Arten der Nährmedien dabei Unterschiede ergeben. Die festen Nährböden wurden nach der Lingelsheimschen Vorschrift hergestellt. Es fand sich, daß von den geprüften Zuckerarten (Glukose, Fruktose, Galaktose, Saccharose, Laktose, Maltose) kein einziger auch nach mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank angegriffen wurde. Die Herstellung der flüssigen Nährböden geschah in der Weise, daß zu 100 ccm 1-proz. Nutroselösung 1 g der verschiedenen Zuckerarten in 6 ccm Lackmuslösung (Kubel-Thiemann) gelöst zugesetzt wurden. Im Gegensatz zu den festen Nährböden konnte hier eine Säurebildung bei den Monosacchariden beobachtet werden.

Die serologische Untersuchung mit polyvalentem Meningokokkenserum hatte ein völlig negatives Resultat. Keiner der Stämme zeigte eine Agglutination sowohl bei einer Bebrütung von 37° wie auch 56°.

Bezüglich der Tierpathogenität sind die in der Literatur vorhandenen Angaben nicht einheitlich. Während Harzer und Lange bei subkutaner Verimpfung auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen keinen Erfolg erzielten, gelang es Frenzel, ein Meerschweinchen durch intraperitoneale Injektion von 2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur zu infizieren.

Mit dem frisch herausgezüchteten Stamm konnte ich durch subkutane Verimpfung von $^1/_{50}$ Normalöse eine Maus wie auch ein Meerschweinchen töten. Die Maus, die nach 18 Std. tot war, wies im Blut wie in sämtlichen Organen die Erreger in großer Menge auf. Das Meerschweinchen wurde nach 48 Std. tot aufgefunden. Bei der Wiederholung des Versuches nach mehrfacher Ueberimpfung auf künstlichen Nährböden war die Virulenz stark zurückgegangen. Subkutane Verimpfung von $^1/_6$ Oese hatte keinen Erfolg. Erst durch intraperitoneale Injektion gelang es, eine Wirkung hervorzurufen; die zur Infektion nötige Menge steigerte sich, je länger die Weiterzüchtung auf Nährböden dauerte.

Der erhobene Befund war in allen Versuchen der gleiche: Abdomen stark aufgetrieben. Bei Eröffnung der Bauchhöhle fand sich reichlich mäßig trübes Exsudat, starke Injektion der Därme und des Mesenteriums. Das Netz lag zusammengerollt an der großen Kurvatur des Magens. Milz und Leber waren mit fibrinösen Auflagerungen bedeckt, die zahlreiche Leukozyten und massenhaft ausschließlich extrazellulär gelagerte Kokken enthielten. Diese fanden sich auch in sämtlichen Organen der Bauch- und Brusthöhle, sowie im Herzblut. Eine makroskopisch sichtbare Veränderung der Brustorgane hingegen war nicht festzustellen.

Das Aussehen der Kokken in den Ausstrichpräparaten der Organe war das gleiche wie in denen der Liquorsedimente. Durch Kulturverfahren konnte überall der Coccus in Reinkultur gewonnen werden. Nach dem geschilderten Verhalten ist die Annahme, daß es sich um Meningokokken handeln könnte, hinfällig. Zwar sind von verschiedenen Autoren Meningokokkenstämme beschrieben worden, die beträchtliche Abweichungen im kulturellen und serologischen Verhalten gegenüber dem normalen aufweisen und Mutationsformen darstellen. Aber auch diese kommen für den vorliegenden Fall nicht in Betracht, da es sich

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei den atypischen Stämmen immer nur um Abweichungen in der einen oder anderen Hinsicht handelt, sei es daß sie in ihrem Zuckervergärungsvermögen sich von echten Meningokokken unterscheiden, sei es daß sie an die Qualität des Nährbodens geringere Ansprüche stellen, und von vornherein auch auf Nährböden wachsen, die von nativem Eiweiß frei sind, oder daß sie serologisch sich anders verhalten.

Im vorliegenden Falle aber sind die Abweichungen vom Verhalten des Meningococcus in jeder Hinsicht so groß, daß es sich nur um einen von diesem artverschiedenen Coccus handeln kann. Als Sitz des sonst harmlosen Saprophyten ist, wie schon Lingelsheim gezeigt hat, die Schleimhaut des Rachens anzusehen, wo er auch in zweien der vorliegenden Fälle nachgewiesen werden konnte.

Wir haben es also mit einem nach Gotschlich unfertigen Infektionserreger zu tun, der gelegentlich aus seiner saprophytären Rolle ins Pathogene hinüber wechselt. Auch die von Stephan und Lüdke gemachten Beobachtungen über Kontagiosität lassen sich mit dieser Auffassung in Einklang bringen, da es immerhin möglich ist, daß ein Stamm zuweilen eine stärkere Virulenz gewinnt und in der Lage ist, eine größere Reihe von Infektionen zustande zu bringen. Im allgemeinen aber wird es sich wohl immer nur um vereinzelte Fälle handeln, denen vom epidemiologischen Standpunkte aus keine größere Bedeutung zuzumessen ist, als den gelegentlichen Infektionen durch Coli und ähnliche.

Schließlich möchte ich noch zu dem von Pollag gemachten Vorschlage der Benennung: Para-Meningococcus Stellung nehmen. Pollag begründet diesen Namen unter Hinweis auf Typhus und Paratyphus damit, daß der Diplococcus aussieht wie ein Meningococcus. die meisten seiner vitalen Eigenschaften besitzt und ein ähnliches Krankheitsbild erzeugen kann, während der Name Diplococcus mucosus nur die morphologischen und kulturellen Eigenschaften ausdrückt; dem Kliniker würde die von ihm vorgeschlagene Bezeichnung stets willkommener sein und mehr sagen als eine Bezeichnung, die sich nur auf die Physiologie bezieht. Ich halte die Begründung nicht für ausreichend, da außer einer morphologischen Aehnlichkeit kaum eine Uebereinstimmung mit dem Meningococcus vorhanden ist und die Bezeichnung Parameningococcus zu leicht Verwirrung anrichten könnte. Der Hinweis auf Typhus und Paratyphus scheint mir nicht am Platze zn sein, da zwischen diesen beiden Erregern doch ein weit höherer Grad der Verwandtschaft besteht, sowohl was die Epidemiologie als auch die Biologie angeht. Unter Parameningokokken verstehen wir Meningokokken, die sich in der einen oder anderen Art von den typischen Stämmen unterscheiden und nur eine Abart der echten darstellen, was für den hier in Frage stehenden Mikroorganismus nicht angenommen werden kann. Es dürfte deshalb angebracht erscheinen, es bei dem von Lingelsheim vorgeschlagenen Namen Diplococcus mucosus zu belassen.

Literatur.

1) Eichhoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. — 2) Frenzel, ebenda, Bd. 88. — 3) Hazer u. Lange, Münch. med. Wochenschr. 1916. Nr. 50. — 4) Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 59. — 5) Derselbe, Dtsch. med. Wochenschrift 1917. Nr. 18. — 6) Lüdke, ebenda. 1918. Nr. 50. — 7) Pollag, Münch. med. Wochenschr. 1917. S. 771. — 8) Reuss, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 87. — 9) Stephan, Münch. med. Wochenschr. 1916. S. 670. — 10) Derselbe, ebenda. 1917. Nr. 8.

Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ist die Milzbrandimmunität an das Hautorgan gebunden?

[Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

Von Dr. **Shigeru Tada.**

Immer mehr lenkt sich die Aufmerksamkeit auf die Tatsache, daß das Hautorgan für die Immunität und die Immunitätsreaktionen offenbar eine besondere Bedeutung hat. Bei einer ganzen Reihe von Infektionen hat man, wie bekannt, schon seit längerer Zeit die eigentliche Hautimpfung in ihrer kutanen oder intrakutanen Form zu diagnostischen und therapeutischen Zwecken zur Anwendung gebracht. Es braucht hier nur auf die Tuberkulose, auf Diphtherie, Trichophytie, Gonorrhöe u. a. verwiesen und namentlich an die Pocken erinnert zu werden, wo die vielumstrittene Rolle der Haut bei der Entstehung der Immunität noch immer den Gegenstand experimenteller Forschungsarbeit bildet.

Freilich bestehen über die Art und Weise, wie das Hautorgan sich in immunisatorischer Hinsicht zu dem Gesamtorganismus verhält, noch mancherlei Meinungsverschiedenheiten. Die letzte Zeit hat hier zu interessanten Erörterungen und Experimenten Anlaß gegeben (vgl. Fellinger, E. F. Müller, v. Wassermann, Klemperer und Peschic, Volk, W. Jadassohn, Martenstein und Schapiro u. v. a.).

Bei dem Milzbrand ist nun durch Besredka der Haut eine geradezu beherrschende Bedeutung zuerkannt und die Haut ausschließlich für das Zustandekommen der Infektion und der Immunität verantwortlich gemacht worden. Durch eine Reihe von Experimenten hat er den Nachweis zu erbringen versucht, daß bei empfänglichen Tieren, speziell bei Meerschweinchen, aber auch bei Kaninchen die Infektion mit vollvirulenter Milzbrandkultur überhaupt nur dann haftet, wenn dem Erreger in irgendeiner Weise Gelegenheit gegeben wird, sich in der Haut anzusiedeln und von hier aus zu wirken. Gelingt es, eine Infektion so vorzunehmen, daß die Haut von jeder Berührung mit dem Infektionserreger sicher frei gehalten wird, so bleiben die Tiere gesund, sie überwinden die Krankheit ohne nennenswerte Krankheitserscheinungen. Es ist schon aus älteren Untersuchungen bekannt, daß die subkutane Impfung sicherer tötet als andere Infektionsweisen, und daß Meerschweinchen und Kaninchen z. B. von der Blutbahn oder vom Peritoneum aus selbst größere Mengen virulenter Milzbrandkultur vertragen (vgl. Noetzel, van Leent, Roger und Garnier u. a.). Auch gegenüber der Inhalation und Verfütterung virulenten Milzbrandmaterials besteht, wie man weiß, eine erhöhte Widerstandsfähigkeit der sonst hochempfänglichen Versuchstiere, und die Conjunctiva scheint nach den Beobachtungen von Braunschweig, die neuerdings durch Aitoff bestätigt worden sind, ebenfalls nur wenig oder gar nicht als Eintrittspforte geeignet zu sein. Man darf also wohl das eine als Tatsache hinnehmen, daß die Milzbrandinfektion von der Haut aus am sichersten angeht. Wie dies zu erklären sein könnte, bleibe zunächst unerörtert. Besredka geht aber noch weiter. Er ist der Ansicht, daß die Haut überhaupt das einzige Organ sei, in dem die Milzbrandinfektion zu fortschreitender Entwicklung gelange; alle übrigen Organe der milzbrandempfänglichen Laboratoriumstiere seien in Wirklichkeit für Milzbrand unempfänglich. So fand Besredka die intratracheale, intraperitoneale und intravenöse Injektion virulenter Milzbrandkultur für Meerschweinchen völlig indifferent, sobald eine Infektion der Haut bei der Einspritzung vermieden wurde.

Der Milzbrand würde also nach diesen Ergebnissen eine reine Hautinfektionskrankheit darstellen, indem das Hautorgan der eigentliche Sitz der Erkrankung ist, und die Weiterverbreitung des Milzbrandbazillus und seine Ansiedlung in den verschiedensten inneren Organen würde sich lediglich als Sekundärerscheinung darstellen.

In Uebereinstimmung mit diesen Experimenten und Anschauungen soll sich nach Besredka auch die Immunität bei Milzbrand immer nur von der Haut aus erzielen lassen. Er betont, wie schwer es ist, bei kleinen Laboratoriumstieren mittels der ge-

Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

wöhnlichen Art der Verimpfung des Kulturmaterials eine aktive Immunisierung durchzuführen, und hält es bei Meerschweinchen überhaupt kaum für möglich, trotz schonendsten Vorgehens, auf subkutanem, intraperitonealem oder intravenösem Wege Immunität zu erzielen. Damit bestätigt er die allgemeine Erfahrung (cf. Sobernheim). Dagegen gelingt es nach seinen Angaben ohne weiteres, Meerschweinchen durch Kutanimpfung bei systematischer Vorbehandlung gegen die sonst unfehlbar tödliche Infektion mit virulenter Milzbrandkultur zu immunisieren. Der Autor geht zu diesem Zwecke so vor, daß er die Kutanimpfungen zunächst mit abgeschwächten Milzbrandstämmen, dem Pasteurschen Vakzin I und II, vornimmt und schließlich virulente Bakterien verwendet. Dabei erwies es sich als unwesentlich, wie die Verimpfung in die Haut erfolgte. In einer 1. Versuchsreihe wurde ein Wattebausch mit der Milzbrandkultur getränkt und auf der frisch rasierten Bauchhaut verrieben, in anderen Versuchen wurde die Kultur intrakutan injiziert.

Balteano, der Untersuchungen ähnlicher Art an Meerschweinchen und Kaninchen ausgeführt hat, kommt zu Ergebnissen, welche die Angaben Besredkas in allen Punkten bestätigen und dafür sprechen, daß eine Infektion gegen Milzbrand nur von der Haut aus zu erzielen sei und eine Immunisierung von Meerschweinchen nur durch Kutanimpfung, nicht aber auf subkutanem Wege gelinge. Auch Brocq-Rousseau und Urbain, sowie Combiesco bestätigen im wesentlichen die Angaben Besredkas, letzterer freilich mit der Einschränkung, daß die Milzbrandinfektion bei Meerschweinchen und Kaninchen nach subkutaner, intraperitonealer und intravenöser Impfung nur dann resultatlos bleibe, wenn die Zahl der verimpften Bakterien nicht eine gewisse Grenze überschreite.

Da, wie erwähnt, mit den gewöhnlichen Methoden eine aktive Immunisierung von Meerschweinchen gegen Milzbrand überhaupt nur außerordentlich schwer und unregelmäßig zu erzielen ist, so sind die eben kurz angeführten Experimente sicherlich von großem Interesse. Freilich müssen schon von vornherein große Bedenken gegen die entscheidende Bedeutung des Hautorgans für Milzbrandinfektion und Milzbrandimmunität geltend gemacht werden. Man wird unwillkürlich erinnert an die seinerzeit sehr bekannten und auch heute immer noch eindrucksvollen Experimente von Schimmelbusch, der Mäuse am Schwanz mit Milzbrand infizierte und kurze Zeit nach der Infektion den Schwanz amputierte, ohne daß es auf diese Weise möglich war, die Tiere zu retten. Sie gingen an Milzbrand zugrunde. Hier war also die Infektionsstelle der Haut vollkommen entfernt und trotzdem nahm die Infektion unbeeinflußt ihren Verlauf. Auch bei Immunisierungsversuchen, bei denen man die Kulturen, abgeschwächte und virulente, Meerschweinchen oder Kaninchen subkutan injiziert, wird ja der Stichkanal in der Regel mitinfiziert, so daß man neben der subkutanen zugleich eine kutane Impfung vornimmt. Das wird auch von Besredka anerkannt. Trotzdem liefert die Immunisierung auf subkutanem Wege, speziell bei Meerschweinchen, nur wenig befriedigende Resultate. Gewiß ist bei dieser Art unfreiwilliger kutaner Verimpfung der Bakterien die Zahl der in die Haut gelangenden Infektionserreger nur sehr gering, geringer als man sie bei beabsichtigter Kutan- oder Intrakutanimpfung von der Haut aus zur Wirkung zu bringen vermag. Immerhin scheint uns ein gewisser Widerspruch darin zu liegen, wenn Besredka die kutane Verimpfung der Milzbrandbakterien als conditio sine qua non für das Angehen der Infektion und die Ausbildung einer Immunität anspricht, dann aber eine Immunisierung z. B. auf subkutanem Wege für unmöglich erklärt, obgleich hierbei nach seinen eigenen Worten eine Verletzung und Infektion der Haut meist unvermeidlich ist. Er nimmt folgerichtig an, daß die Verimpfung virulenter Milzbrandbakterien in irgendeiner Form deshalb gewöhnlich den Tod der Tiere herbeiführe, weil gleichzeitig immer die Haut verletzt werde. Es ist aber nicht einzusehen, weshalb nach subkutaner Infektion oder auch nach intraperitonealer und intravenöser, wenn die Haut zugleich mitinfiziert wird, nun nicht auch eine Immunisierung möglich sein sollte.

Ich habe es auf Anregung von Herrn Prof. Sobernheim unternommen, durch eigene Experimente dieser Frage weiter nachzugehen und insbesondere zu untersuchen, inwieweit man imstande ist, Meerschweinchen durch kutane Vorbehandlung sicherer als auf andere Weise gegen Milzbrand zu immunisieren.

Hinsichtlich der Versuchstechnik habe ich mich im wesentlichen an die Angaben von Besredka gehalten und zur kutanen Infektion den von ihm zuerst angewandten Infektionsmodus des Einreibens der Bakterien in die frisch rasierte Haut gewählt. Als Versuchstiere wurden ausschließlich Meerschweinchen benutzt. Die

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 11:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verimpfung der Kultur erfolgte so, daß die Bauchhaut zunächst in weitem Umkreise rasiert und dann mit steriler NaCl-Lösung gründlich abgewaschen wurde. Hierauf wurde ein mit Pinzette gefaßter steriler Wattebausch mit der Milzbrandkultur gut durchtränkt und kräftig auf der rasierten Hautstelle verrieben. Zur Vermeidung von Mischinfektionen erhielten die Tiere hinterher einen Schutzverband mit steriler Mullbinde. Vor jeder neuen Impfung wurde die Bauchhaut immer wieder frisch rasiert. Die Milzbrandkulturen, die zur Verimpfung gelangten, waren ausnahmslos junge, ca. 20-stünd. Agarkulturen, deren Rasen mit phys. NaCl-Lösung zu einer dichten Emulsion abgeschwemmt wurde.

Der Immunisierungsgang war im allgemeinen der gleiche. Zuerst wurde Vakzin I verimpft, nach ca. 7 Tagen Vakzin II, nach einer weiteren Woche nochmals Vakzin II, worauf dann nach 8—10 Tagen die Infektion mit virulenter Kultur folgte. In anderen Versuchen wurde die Vorbehandlung noch länger durchgeführt und eine 3. Impfung mit Vakzin II eingeschaltet.

Zusammen mit den kutan infizierten Tieren wurde stets eine gleiche Zahl von Meerschweinchen auf andere Weise vorbehandelt, und zwar in einer 1. Versuchsreihe subkutan, in einer 2. intramuskulär. Dabei waren die verwendeten Kulturen, sowie die Termine und zeitlichen Intervalle genau die gleichen wie bei den anderen Tieren. Die Dosierung war so getroffen, daß zuerst $^1/_{10}$ Oese Vakzin I, dann Vakzin II in der Menge von $^1/_{10}$ und $^1/_2$ Oese injiziert wurde und die Prüfung auf Immunität mittels subkutaner Injektion von $^1/_{1000}$ Oese virulenter Milzbrandkultur erfolgte.

In jedem Falle wurden außerdem bei der Verimpfung virulenter Kultur die nötigen Kontrollen vorgenommen und einige unbehandelte Meerschweinchen in gleicher Weise infiziert.

Ich lasse zunächst 2 Versuchsreihen folgen, die je 6 Tiere und 3 Kontrollen umfassen. Die eine Reihe betrifft Versuche mit kutaner Immunisierung und Infektion, die andere solche mit subkutaner Verimpfung der Kulturen. Die Versuche sind in Tabellenform zusammengestellt (Tab. I und II).

Das Ergebnis ist klar und eindeutig. Auf kutanem Wege ließ sich eine Immunisierung bei 3 von 6 Tieren erreichen, so daß nach Abschluß der Vorbehandlung die Einreibung virulenter Milzbrandkultur in die Bauchhöhle glatt vertragen wurde. Die Kontrolltiere starben bei der gleichen Infektionsweise nach 2 Tagen. In 2 Fällen waren Vakzin I und II zur Immunisierung verwendet worden, bei einem Tier nur Vakzin I. Das letztere hatte auf die Einreibung mit Vakzin I eine so starke und lang andauernde Lokalreaktion gezeigt, daß von weiterer Kutanbehandlung zunächst abgesehen werden mußte und späterhin gleich zur Probeinfektion geschritten wurde. Auch dieses Tier erwies sich als immun. Demgegenüber sind nun aber die 3 übrigen Meerschweinchen dieser Versuchsreihe der Infektion mit virulenter Kultur fast genau wie die Kontrolltiere erlegen. Sie starben um ein geringes (10—20 Std.) später, es ist aber wohl fraglich, ob diese unbedeutende Verzögerung des Infektionsverlaufs als Ausdruck einer schwachen Immunität angesehen werden darf. Jedenfalls fällt der Unterschied zwischen diesen 3 Tieren und den 3 anderen, die eine virulente Infektion überstanden, deutlich in die Augen. Auch der Sektionsbefund ergab nichts Besonderes, es fanden sich die gleichen charakteristischen Veränderungen und die gleiche Verbreitung der Milzbrandbazillen in großer Zahl, wie bei

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I. Kutane Immunisierung (Meerschweinchen).

Nr.	Gewicht	I. Impfung	II. Impfung	III. Impfung	Infektion mit virulenter Kultur	Resultat	Bemerkungen
1	440	1. Febr. Vakzin I i. d. rasierte Bauchhaut eingerieben	—	—	24. Febr. vir. Milzbrand i. d. Bauchhaut eingerieben	lebt	Nach Verimpfung des Vakzin I starke lokale Reaktion und ausgedehntes Oedem
2	440	desgl.	8. Febr. Vakzin II in die Bauchhaut eingerieben	26. Febr. Vakzin II i. d. Bauchhaut eingerieben	24. Febr. vir. Milzbrand i. d. Bauchhaut eingerieben	† 27. Febr. Milzbrand	Lokale Rötung und Oedem nach Verimpfung von Vakzin I, Vakzin II reaktionslos vertragen
3	500	16. Febr. desgl.	23. Febr. desgl.	2. März desgl.	10. März desgl.	lebt	Vakzin I bewirkt geringe Lokalreaktion, ebenso Vakzin II bei beiden Impfungen
4	530	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	lebt	Reaktion wie bei Nr. 3
5	540	„	„	„	„	† 13. März Milzbrand	Stärkere Rötung und Oedem nach Vakzin I
6	560	„	„	„	„	† 13. März Milzbrand	Reaktion wie bei Nr. 3
a	550	—	—	—	24. Febr. desgl.	† 26. Febr. Milzbrand	Kontrollen
b	480	—	—	—	10. März desgl.	† 12. März Milzbrand	Kontrollen
c	520	—	—	—	10. März desgl.	† 12. März Milzbrand	Kontrollen

Tabelle II. Subkutane Immunisierung.

Nr.	Gewicht	I. Impfung	II. Impfung	III. Impfung	Infektion mit virulenter Kultur	Resultat	Bemerkungen
7	400	1. Febr. $^1/_{10}$ Oese Vakzin I subkutan	8. Febr. $^1/_{10}$ Oese Vakzin II subkutan	16. Febr. $^1/_2$ Oese Vakzin II subk.	26. Febr. $^1/_{1000}$ Oese Milzbrandvirul.	lebt	Vorbehandlung ohne jede Lokalreaktion
8	450	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	† 1. März Milzbrand	desgl.
9	500	16. Febr. desgl.	23. Febr. desgl.	2. März desgl.	12. März desgl.	lebt	„
10	500	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	† 14. März Milzbrand	„
11	450	„	„	„	desgl.	lebt	„
12	450	„	„	„	—	† 8. März Milzbrand	Die 2. Injekt. von Vakzin II ($^1/_2$ Oese) ruft ödematöse Infiltration hervor
d	580	—	—	—	26. Febr. $^1/_{1000}$ Oese Milzbrandvirul.	† 1. März Milzbrand	Kontrollen
e	470	—	—	—	12. März desgl.	† 14. März Milzbrand	Kontrollen
f	580	—	—	—	12. März desgl.	† 15. März Milzbrand	Kontrollen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Kontrolltieren. Wir stehen somit vor der Tatsache, daß die Einreibung von abgeschwächten Milzbrandbakterien in die Haut nur 50 Proz. der vorbehandelten Tiere, 3 von 6, zu immunisieren vermochte, in der Hälfte der Fälle aber vollständig versagte, obwohl die Behandlung der Tiere durchweg die gleiche gewesen ist. Schon hieraus geht hervor, daß das Verfahren der kutanen Impfung einen Erfolg durchaus nicht mit der Sicherheit gewährleistet, wie man nach den Angaben Besredkas hätte erwarten sollen, vielmehr läßt schon diese erste Versuchsreihe erkennen, daß weniger die Immunisierungsmethode als das individuelle Verhalten der einzelnen Versuchstiere über das Zustandekommen einer Immunität entscheidet. Das wird aber noch deutlicher erwiesen und bestätigt durch die in Tab. II wiedergegebenen Experimente mit subkutaner Verimpfung des Bakterienmaterials.

Die Versuche der Tab. II zeigen in ihren Ergebnissen eine weitgehende Uebereinstimmung mit denen der 1. Versuchsreihe. Auch hier sind von 6 Tieren 3 der Probeinfektion erlegen und 3 erwiesen sich als immun. Also auch mittels subkutaner Injektion der Vakzine ließ sich bei der Hälfte der Tiere Immunität erzielen. Dabei rief die Verimpfung der abgeschwächten Stämme keinerlei erkennbare Lokalreaktion hervor, was insofern von Bedeutung ist, als damit jedes äußere Anzeichen fehlte, daß die Haut an dem immunisierenden Eingriffe irgendeinen besonderen Anteil nimmt. Nur 1 Tier ging nach der 2. Impfung mit Vakzin II ($^1/_2$ Oese) an Milzbrand ein, war also durch die ersten beiden Injektionen von Vakzin I und II nicht einmal gegen eine stärkere Dosis des Vakzins II geschützt worden. Wir sehen somit in dieser Versuchsreihe wieder genau die gleichen Unregelmäßigkeiten wie bei den Kutanversuchen; bei völlig gleicher Art der Vorbehandlung wird die eine Hälfte der Tiere immun, die andere nicht. Ein Unterschied zwischen kutaner und subkutaner Immunisierung besteht anscheinend nicht, beide Methoden leisten das gleiche, wobei höchstens auffallen könnte, daß auch auf subkutanem Wege Erfolge erreicht wurden, wie man sie bei Meerschweinchen nur selten und schwer erzielt. Denn daß 3 von 6 Tieren gegen Milzbrand immun geworden sind, darf als ein außergewöhnlich gutes Resultat bezeichnet werden.

Nach früheren Darlegungen könnte man nun gegen diese Versuche den Einwand erheben, daß bei den subkutanen Injektionen eben doch auch die Haut selbst mitinfiziert worden ist, so daß auf die Hauptfrage, nämlich die nach der Bedeutung des Hautorgans für das Zustandekommen der Immunität, durch die bisher angeführten Experimente keine entscheidende Antwort erteilt wurde. Freilich waren auch die Resultate der kutanen Immunisierung keineswegs so sehr gut und überzeugend. In einer weiteren Reihe von Versuchen wurde daher die Anordnung so getroffen, daß parallel zu den kutan vorbehandelten Tieren eine gleiche Anzahl von Meerschweinchen intramuskulär geimpft wurde, unter sorgfältiger Vermeidung jeder Hautinfektion. Die Injektionen wurden teils in den Bauchmuskel (M. rectus abd.), teils in den M. glutaeus, abwechselnd links und rechts, vorgenommen. Zu diesem Zwecke wurde zunächst in die rasierte und desinfizierte Hautstelle ein Schnitt von ca. 1 cm gelegt; hierauf wurde bei gut auseinander gehaltenen Wundrändern die Kultur direkt in den Muskel injiziert und die Injektionsstelle mit Hilfe eines glühenden Glasstabes kauterisiert und gründlich verschorft. Die Hautwunde wurde dann mit Kollodium bepinselt und durch einen Verband geschützt. Die Prüfung auf Immunität

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nr.	Gewicht	I. Impfung	II. Impfung	III. Impfung	IV. Impfung	Infektion mit virulenter Kultur	Resultat	Bemerkungen
13	330	16. April Vakzin I i. d. Bauchh. einger.	—	—	—	—	† 19. April Milzbrand	.
14	360	desgl.	24. April Vakzin II in die Bauchhaut eingerieben	2. Mai Vakzin II in die Bauchhaut eingerieben	9. Mai Vakzin II in die Bauchhaut eingerieben	19. Mai virul. Kultur in die Bauchhaut eingerieben	lebt	Nur die 1. Impfung mit Vakzin II ruft leichte Lokalreaktion hervor
15	350	„	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	lebt	Die Impfungen verlauf. mit geringer Reaktion
16	340	„	„	„	„	„	lebt	desgl.
17	300	„	„	„	„	„	† 21. Mai Milzbrand	Die Impfung mit Vakzin I u. II verlaufen mit geringer Reaktion
18	350	„	„	—	—	—	† 30. April Milzbrand	Vakzin I war glatt vertragen worden
g	420	—	—	—	—	19. Mai virul. Kult. in die Bauchhaut eingerieben	† 22. Mai Milzbrand	Kontrollen
h	410	—	—	—	—	desgl.	† 21. Mai Milzbrand	Kontrollen

Tabelle IV. Intramuskuläre Immunisierung.

Nr.	Gewicht	I. Impfung	II. Impfung	III. Impfung	IV. Impfung	Infektion mit virulenter Kultur	Resultat	Bemerkungen
19	430	11. April $^1/_{10}$ Oese Vakzin I intramusk. (R. abdom.)	24. April $^1/_{10}$ Oese Vakzin II intramuskul. (glutaeus)	1. Mai $^1/_2$ Oese Vakzin II intramuskulär (glutaeus)	9. Mai $^1/_2$ Oese Vakzin II intramuskulär (glutaeus)	19. Mai $^1/_{1000}$ Oese vir. Milzbr. subkutan	lebt	Nach Vakzin I trat stärkere Wundreaktion auf Eiterung und Geschwürsbildung (Mischinfektion?)
20	480	16. April desgl.	desgl.	desgl.	—	desgl.	† 21. Mai Milzbrand	Die Vakzineimpf. waren fast reaktionslos verl.
21	490	desgl. (M. glutaeus)	„	2. Mai desgl.	9. Mai $^1/_2$ Oese Vakzin II intram. (glut.)	„	lebt	desgl.
22	360	desgl. (M. glutaeus)	„	2. Mai desgl.	desgl.	„	lebt	1. Impfung m. Vakz. II macht etwas stärkere Lokalreakt.
23	490	desgl.	—	—	—	—	† 22. April Milzbrand	.
24	480	desgl. (M. rect. abd.)	24. April $^1/_{10}$ Oese Vakzin II intramuskul. (glutaeus)	—	—	—	† 1. Mai Milzbrand	.
i	400	—	—	—	—	19. Mai $^1/_{1000}$ Oese vir. Milzbr. intram. (M. rect. abd.)	† 22. Mai Milzbrand	Kontrollen
k	450	—	—	—	—	19. Mai $^1/_{1000}$ Oese vir. Milzbr. subkutan	† 21. Mai Milzbrand	Kontrollen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erfolgte mittels subkutaner Infektion. Eine Aenderung gegenüber den beiden ersten Versuchsreihen bestand sodann noch darin, daß die Vorbehandlung verlängert wurde und die Meerschweinchen, sowohl die kutan als auch die intramuskulär immunisierten, 3mal Vakzin II erhielten.

Das Resultat ist in den beiden vorstehenden Tabellen verzeichnet (Tab. III und IV).

Wiederum stimmen die Ergebnisse der beiden Immunisierungsmethoden in einer Weise überein, daß man geradezu überrascht sein könnte. Nicht nur untereinander, sondern auch bei Vergleich mit den früheren, in Tab. I und II wiedergegebenen Versuchen besteht eine weitgehende Uebereinstimmung. Sowohl von den kutan vorbehandelten, als auch von den rein intramuskulär geimpften Tieren konnten, ganz wie in den ersten Versuchsgruppen, je 3 (50 Proz.) so weit gebracht werden, daß sie bei der Immunitätsprüfung mit virulenter Kultur sich als immun erwiesen. Von einem Unterschiede zwischen der kutanen und der intramuskulären Immunisierungsmethode konnte also schon hiernach nicht wohl die Rede sein, eine Ueberlegenheit der Kutanimpfung war nicht ersichtlich. Aber auch in den weiteren Einzelheiten läßt sich ein sehr ausgesprochener Parallelismus beider Versuchsreihen erkennen. Von den 6 Tieren jeder Reihe konnten nämlich nur 4 in der beabsichtigten Weise bis zu Ende immunisiert werden, während je 2 schon bei der Vorbehandlung an Milzbrand zugrunde gingen, von diesen auch wieder je 1 nach der Impfung mit Vakzin I bzw. Vakzin II. Die intramuskuläre und kutane Impfung sind also hinsichtlich der Gefährlichkeit und Sicherheit des Vorgehens ganz gleich zu bewerten, und auch das Endresultat zeigt in der Sicherheit des Erfolges genau die gleichen Verhältnisse, indem von den 4 bis zu Ende immunisierten Tieren jeder Reihe schließlich nur 3 tatsächlich immun waren, das vierte der Probeinfektion erlag. Dabei könnte man den Ausfall noch eher zugunsten der intramuskulären Immunisierung deuten, da das Tier (Nr. 20), das sich als nicht immun erwies, als einziges nur 3 Vakzininjektionen (statt 4) erhalten hatte, doch wird man im Zusammenhang mit den übrigen Versuchsergebnissen auf diesen Umstand allein kaum entscheidendes Gewicht legen dürfen. Jedenfalls aber steht das eine fest, daß durch rein intramuskuläre Verimpfung von Milzbrandvakzins ebensogut eine Immunität erreicht werden konnte, wie durch die Kutanimpfung in Form von Einreibungen der Kulturen in die Haut. Daß die von mir geübte Technik in der Tat die Bakterien nur in den Muskel einführte, unter sicherer Vermeidung einer Hautinfektion, kann wohl ohne weiteres angenommen werden; eine Hautreaktion, die auf eine kutane Infektion zu beziehen gewesen wäre, wurde bei keinem Tiere beobachtet.

Nachdem die besprochenen Experimente gezeigt hatten, daß es möglich ist, Meerschweinchen durch geeignete Vorbehandlung so weit gegen Milzbrand zu immunisieren, daß sie die Infektion mit virulenter Kultur glatt überstehen, war es nötig, die so erzeugte Immunität auf ihre Beständigkeit und Stärke zu prüfen. Es war ja, wie schon angedeutet, einigermaßen auffallend, daß durch subkutane und auch intramuskuläre Impfungen überhaupt ein Erfolg erzielt werden konnte, denn die bisher vorliegenden Erfahrungen bei Meerschweinchen hatten eine aktive Immunisierung dieser Tiere als ein ziemlich aussichtsloses Unternehmen erscheinen lassen. Für die Annahme, daß der von mir zur Infektion benutzte Milzbrandstamm etwa keine volle Virulenz besaß, boten sich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keine Anhaltspunkte; die Kontrolltiere sind durchweg in der zu erwartenden Zeit und mit den charakteristischen Veränderungen eingegangen. Wohl kommt es bekanntlich vor, daß Meerschweinchen nach längerer Immunisierung einmal eine virulente Infektion überstehen, dann aber einer erneuten Infektion erliegen, so daß man es hier offenbar mit Erscheinungen der erhöhten Resistenz zu tun hat, die für einige Zeit und innerhalb enger Grenzen einer Immunität gleichen kann, dennoch aber keine echte Immunität darstellt. Hieran war auch in meinen Experimenten zu denken. Ich habe daher die 6 aus den beiden letzten Versuchsreihen überlebenden Tiere noch wiederholt mit virulenter Kultur infiziert, und zwar ohne Rücksicht auf die Art der Vorbehandlung und der ersten Infektion, durchweg durch subkutane Verimpfung der Bakterien. Die erste Neuinfektion erfolgte zunächst nach 16—23 Tagen, dann wurden die überlebenden Tiere 7—9 Tage später abermals mit virulenter Milzbrandkultur infiziert. Die Infektionsdosen betrugen $^1/_{1000}$ bzw. $^1/_{500}$ Oese. Jedesmal wurde ein unbehandeltes Kontrolltier mitgeimpft, außerdem nahm ich noch ein weiteres Meerschweinchen mit in den Versuch, das nach intramuskulärer Immunisierung die erste virulente Infektion ebenfalls intramuskulär erhalten und überstanden hatte (Tab. V).

Tabelle V. Wiederholte Nachimpfung der immunisierten Meerschweinchen mit virulenter Milzbrandkultur.

Nr.	Gewicht	Immunisierungsmethode	I. Infektion	II. Infektion	III. Infektion	Resultat
14	360	kutan (Einreibung in die Bauchhaut	19. Mai kutan	4. Juni $^1/_{1000}$ Oese virulenter Kultur subkutan	11. Juni $^1/_{500}$ Oese virulente Kultur subkutan	lebt
15	350	desgl.	desgl.	—	—	† 14. Juni Milzbrand
16	340	„	„	11. Juni desgl.	20. Juni $^1/_{500}$ Oese virulenter Kultur subkutan	lebt
19	430	intramuskulär	19. Mai $^1/_{1000}$ Oese virulenter Kultur subkutan	4. Juni desgl.	11. Juni desgl.	„
21	490	desgl.	desgl.	11. Juni desgl.	20. Juni desgl.	„
22	360	„	„	desgl.	desgl.	„
25	400	3. Mai $^1/_{10}$ Oese Vakzin I intramuskulär 11. Mai $^1/_{10}$ Oese Vakzin II intramuskul. 18. Mai $^1/_2$ Oese Vakzin II intramuskul.	26. Mai $^1/_{1000}$ Oese virulenter Kultur intramuskulär	4. Juni desgl.	11. Juni desgl.	„
l	510	—	—	4. Juni $^1/_{1000}$ Oese virulenter Kultur subkutan	—	† 6. Juni Milzbrand
m	410	—	—	11. Juni desgl.	—	† 14. Juni Milzbrand
n	420	—	—	11. Juni $^1/_{500}$ Oese subkutan	—	† 13. Juni Milzbrand
o	380	—	—	20. Juni desgl.	—	† 22. Juni Milzbrand

Wie Tab. V lehrt, erwiesen sich die immunisierten Meerschweinchen, mit einer einzigen Ausnahme, auch bei den wiederholten Infektionen als immun. Die Ausnahme betraf eigentümlicherweise ein Tier, das ursprünglich mit Hauteinreibungen kutan vorbehandelt worden war und bei der 2. Infektion, ohne jedes

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeichen erhöhter Widerstandsfähigkeit genau wie das Kontrolltier zugrunde ging. Die Immunität der übrigen 6 Tiere war dagegen beständig und hochgradig, denn die Dosis von $^{1}/_{500}$ Oese virulenter Kultur bedeutet schon eine recht starke Milzbrandinfektion.

Das Gesamtresultat meiner Versuche läßt sich somit kurz dahin zusammenfassen, daß die Immunisierung von Meerschweinchen gegen eine Infektion mit virulenter Milzbrandkultur in 50 Proz. der Fälle gelungen ist, wobei es keinen Unterschied machte, ob die Vorbehandlung der Tiere auf kutanem, subkutanem oder intramuskulärem Wege erfolgte. Auch wenn jede Hautinfektion bei der Injektion der abgeschwächten Kulturen sicher vermieden wurde, wie dies bei den Immunisierungsversuchen mit intramuskulärer Impfmethode geschah, konnten genau die gleichen Erfolge erzielt werden, wie mit der rein kutanen Immunisierung. Eine Stütze für die Auffassung, daß die Milzbrandimmunität immer nur auf der Grundlage einer vorausgegangenen Hautinfektion sich entwickeln könne, bringen somit meine Experimente nicht. Sie sprechen vielmehr gegen eine bevorzugte Stellung des Hautorgans und zeigen, daß die Milzbrandimmunität in ihrer Entwicklung unabhängig ist von einer direkten Verimpfung der Bakterien in die Haut.

Schlußsätze.

1) In 2 Parallelreihen, in denen 6 Meerschweinchen mit abgeschwächter Milzbrandkultur (Vakzin I und II) subkutan und kutan vorbehandelt wurden, ergaben sich hinsichtlich des Immunisierungseffektes die gleichen Resultate; 3 Tiere jeder Reihe erwarben Immunität gegen die Infektion mit virulenter Kultur.

2) 2 Parallelreihen von je 6 Meerschweinchen mit kutaner und intramuskulärer Immunisierung lieferten ebenfalls genau übereinstimmende Ergebnisse; je 3 Tiere erwarben Immunität. Bei den intramuskulären Impfungen war jede Hautinfektion vermieden worden.

3) Die auf intramuskulärem oder kutanem Wege erworbene Immunität erwies sich als beständig und stark, indem auch wiederholte Neuinfektionen mit virulenter Kultur fast von allen Tieren glatt vertragen wurden.

4) Die Versuche sprechen dagegen, daß das Hautorgan bei der Milzbrandimmunität eine bevorzugte Rolle spielt. Auch unter Vermeidung jeder direkten Hautinfektion läßt sich Immunität erzielen.

Literatur.

Aitoff, Ann. Pasteur. 1922. — Balteano, Compt. rend. soc. Biol. T. 87. 1922. — Besredka, Ann. Pasteur. 1921. u. Bull. Pasteur. T. 20. 1922. — Braunschweig, Fortschr. d. Med. 1889. — Brocq-Rousseau et Urbain, Compt. rend. soc. Biol. T. 89. 1923. Nr. 23 u. 25. — Combiesco, ibid. T. 89. 1923. — Fellner, Wien. klin. Wochenschr. 1919. — Jadassohn, W., Klin. Wochenschr. 1923. — Klemperer u. Peschic, Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 13. — van Leent, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900. — Martenstein u. Schapiro, Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 29. — Müller, E. F., Berl. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 34; Münch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 29; Dtsch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 23. — Noetzel, Arch. f. klin. Chir. Bd. 57. 1898. — Roger et Garnier, Compt. rend. soc. Biol. T. 58. 1905. — Sobernheim, vgl. Kolle-Wassermann, Handb. Bd. 3. 1913. — Volk, Wien. klin. Wochenschr. 1923. Nr. 27. — v. Wassermann, Münch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 16.

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Einige Bemerkungen zur Pallida-Diagnose.

[Aus der Universitäts-Hautklinik in Bonn a. Rh. (Direktor: Prof. Dr. Erich Hoffmann).]

Von **Edmund Hofmann.**

Wenn man die sich mehrenden Befunde von Spirochäten liest, welche morphologisch von der Spirochaeta pallida in keiner Weise zu unterscheiden sind, ohne jedoch irgendwelche für den Menschen pathogene Bedeutung zu haben, so könnte man an der Möglichkeit, die Syphilis aus dem mikroskopischen Bilde mit Sicherheit feststellen zu können, irre werden. In jüngster Zeit hat z. B. F. Neumann (1) auf Grund seiner Experimente an Kaninchen die Frage aufgeworfen: „Genügt das Vorhandensein von Spirochäten des Pallida-Typ, um den Verdacht auf Syphilis auszusprechen?" Gerade die zahlreichen Veröffentlichungen über die originäre Kaninchenspirochätose weisen immer wieder und meist ganz eindeutig darauf hin, daß morphologische Differenzen zwischen der dieses Leiden verursachenden Spirochaeta cuniculi und der Spirochaeta pallida tatsächlich nicht mit ausreichender Deutlichkeit nachzuweisen sind. Auch Kolle, Ruppert und Möbus, die den Nachweis der Artenverschiedenheit von Sp. cuniculi und pallida führen, geben die morphologischen Unterschiede nur recht vorsichtig an, indem sie schreiben: „Wir betonen, daß die Unterschiede zwischen den beiden Erregern allerdings sehr geringe sind, und daß sie nicht so charakteristisch konstant sind, daß sie eine sichere Trennung von Treponema pallidum und cuniculi ohne weiteres zulassen". Bei geeigneter Technik also und genügender Erfahrung finden diese Autoren ganz geringe Verschiedenheiten, die aber auch ihnen nicht so groß erscheinen, daß darauf eine morphologische Artdiagnose aufgebaut werden könnte. Nun ist dies aber keineswegs etwas Neues, worauf erst das Studium der Spirochaeta cuniculi uns aufmerksam gemacht hat, vielmehr hat es uns nur in der längst gewonnenen Erkenntnis bestärkt, daß es Spirochäten gibt, die morphologisch große Aehnlichkeit mit den Syphiliserregern besitzen. Bekannt ist ja schon 18 Jahre die schwere Unterscheidbarkeit der Spirochaeta pallidula, des Erregers der Framboesie, von der Pallida. Die Prowazeksche Beschreibung „etwas dicker" „weniger starre und regelmäßige Windungen, einen nicht so elastischen und formbeständigen Faden" usw. läßt schon erkennen, daß die Unterschiede weit weniger ausgesprochen sind, als wir sie z. B. bei Individuen der Pallida sehen, die durch das Medium (Kultur) verändert sind; auch die öfters nahe den Enden vorhandenen knötchenförmigen Anschwellungen des Fadens sind beiden gemeinsam.

Diese Spirochäten aber und die beim Ulcus tropicum gefundenen kommen trotz ihrer Aehnlichkeit mit der Pallida in unseren Gegenden für die Differentialdiagnose kaum in Frage. Dagegen bereiten öfters Schwierigkeiten solche Formen, die, ohne irgendwelche ätiologische Bedeutung zu besitzen, beim Menschen an Genitalien, im Munde, auf Geschwüren, Erosionen und bei Karzinomen saprophytisch vorkommen. Wie schwerwiegend solche Täuschungen sein können, beweisen uns mancherlei unliebsame Erfahrungen über Fälle, in denen selbst gewiegte Mikroskopiker sich gründlich irreführen ließen. Um auf diese klinisch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ungemein wichtige Täuschungsmöglichkeit schon durch die Nomenklatur aufmerksam zu machen, hat E. Hoffmann (vgl. 3a, S. 829) mit P. Mulzer bereits 1905/06 den Namen „Spirochaeta pseudopallida“ geprägt und die lange Zeit zu wenig beachtete „Hoffmannsche Regel“ aufgestellt, wonach Präparate, die nicht lediglich den Typus Pallida, sondern auch abweichende und gröbere Spirochätenformen enthalten, für die Entscheidung der so bedeutungsvollen Diagnose Lues nicht verwandt werden dürfen, womit natürlich auch gesagt sein soll, daß aus dem Befunde eines oder ganz weniger Exemplare des Pallida-Typs die Diagnose, zumal in klinisch zweifelhaften und eigenartig liegenden Fällen, nicht gemacht werden darf. Nur 2 Fälle aus Prof. E. Hoffmanns Privatpraxis seien zur Illustrierung kurz erwähnt. Der 1. (3b) betraf eine umschriebene balanitische Erosion mit so zahlreichen pallida-ähnlichen Spirochäten neben abweichenden Formen, daß ein erfahrener Assistent glaubte, einen Primäraffekt annehmen zu müssen, der 2. ein ganz oberflächliches beginnendes Cancroid der Kranzfurche des Penis, bei dem infolge suspekter Anamnese ein Primäraffekt von einem erfahrenen Arzte diagnostiziert worden war (Pseudopallidae ++). In beiden Fällen konnte ein verhängnisvoller Irrtum vermieden werden; denn es handelte sich, wie auch die weitere Beobachtung und der histologische Befund lehrten, nur um „Pseudopallidae“, nämlich oberflächlich schmarotzende Balanitis- bzw. Karzinomspirochäten, bei denen erneute und saubere Abnahme des Materials unter sorgsamer Beachtung der Hoffmannschen Regel Klärung zu bringen vermochten.

Nun hat F. Neumann die Behauptung aufgestellt, daß es beim Kaninchen bei künstlich gesetzten Verletzungen in verschmutzten Käfigen gelänge, Spirochäten vom Pallida-Typus auf diesen Erosionen und Ulcera gewissermaßen heranzuzüchten. Diese von ihm in seiner Dissertation (4) näher beschriebenen Experimente habe ich auf Veranlassung von Prof. Hoffmann nachzuprüfen versucht, indem ich Kaninchen an der Vulva-Analgegend Erosionen gesetzt und sie dann längere Zeit in ungesäubertem Käfig habe leben lassen. Dabei habe ich aber niemals in den Erosionen Spirochäten vom Pallida-Typ entdecken können, was natürlich nichts gegen die Richtigkeit des Neumannschen Fundes beweisen soll. Die Neumannsche Beobachtung erklärt sich am einfachsten, daß er spontane Kaninchenspirochätose durch die Verletzung und die Verschmutzung der Käfige manifest gemacht hat. Das Vorhandensein dieser Befunde deutet wohl ebenso wie die Pseudopallida-Befunde am Menschen die Schwierigkeiten der morphologischen Pallida-Diagnose an, weist aber zugleich auf die zu beachtenden Kunstgriffe hin, die nötig sind, um die Diagnose einwandfrei zu gestalten: Die Abnahme des Materials und die sogenannte Hoffmannsche Regel.

Durch seine Kultivierung der verschiedenen Spirochätenarten hat Noguchi gezeigt, daß die eigentlich unterscheidbaren Charaktere keineswegs die morphologischen Eigentümlichkeiten einer Art sind, daß wir vielmehr zum Teil in der Biologie der Organismen die Differenzen entdecken können, die erst eine Unterscheidung der morphologisch nicht zu differenzierenden Formen ermöglichen. Die Noguchischen Arten, Treponema mucosum und ganz besonders microdentium sind nicht nur in der Kultur, in der sich die Formen ja leicht verändern, sondern auch sonst sehr ähnlich, so daß Noguchi (5) zu dem Schluß kommt, die Unterscheidung durch morphologische und färberische Eigen-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tümlichkeiten allein nicht treffen zu können, sondern nur durch die Reinkultur.

Wenn schon der Vergleich mit ähnlichen Arten die großen Schwierigkeiten, auf morphologischem Wege verschiedene Spezies zu isolieren (und ebenso die Diagnose Spirochaeta pallida zu stellen) erkennen läßt, so erscheinen die Schwierigkeiten zunächst noch viel größer, wenn man die abweichenden Formen betrachtet, die in einwandfreien Pallida-Reinkulturen auftreten können.

Schon die ersten Autoren, denen die Kultivierung der Pallida gelang, beschreiben die abgeänderten Formen, die in Kulturröhrchen gefunden werden. Manche Autoren haben zuweilen Refringens-ähnliche Formen in den Kulturen auftreten sehen, und zwar die einen zu Beginn der Kultivierung, während die anderen zuerst Pallida-Typen feststellen konnten, neben denen erst später gröbere Formen folgten. Etwas eingehender findet sich diese Frage in meinen „Untersuchungen an Kulturspirochäten" erörtert. Dort ist auch ausgeführt, daß die Bezeichnung Refringens-Typ durchaus nicht das Vorhandensein von wirklicher Spirochaeta refringens bedeuten muß, sondern vielmehr nur eine gewisse Auflockerung in der Windungsart und allenfalls gröberen Bau andeutet. „Die typische, schlängelnde und lebhaft aktive Ortsbewegung der Refringens-Spirochäten ist nirgends beschrieben; und darum werden wir mit der Vermutung nicht fehlgehen, daß es sich hier um durch die Kultur entartete Pallidae und nicht um wirkliche Refringentes handelte" (S. 313). Zahlreiche Abbildungen, die in meiner erwähnten Arbeit wiedergegeben sind, legen Zeugnis von der Vielgestaltigkeit der Pallida in Kulturen ab. Veränderte, eventuell verschlechterte Lebensbedingungen sind die Ursache für diese Gestaltsveränderung, und je nach der Konstanz des Mediums finden wir die Spirochaeta pallida in der typischen Spiralform, wie wir sie vom menschlichen Gewebe her zu sehen gewohnt sind, oder in jener aufgelockerten und gröberen Form der späteren Kulturpassagen.

Im menschlichen Organismus werden ja solche Schwankungen der Lebensbedingungen nicht vorhanden sein, wie wir sie von der Kultur her kennen. Insbesondere ist die Konsistenz des Mediums, in dem sich die Spirochaeta pallida bewegt, wohl meist eine gleich bleibende. Und doch ist es denkbar, daß beträchtlichere Formveränderungen eintreten können, wenn die Lebensenergie der Spirochäten selbst nachläßt und die Pallida sich nicht in der Tiefe des Gewebes aufhält, sondern unter ganz anderen Luft- und Sauerstoffverhältnissen an der Oberfläche einer syphilitischen Effloreszenz vorkommt.

Ob also unter den zahlreichen Formen, die z. B. in dem Belag syphilitischer Papeln beobachtet sind, außer den wirklich saprophytären Organismen, die in die Gruppe der Refringens gehören, auch eine Anzahl von veränderten Gewebs-Pallidae vorkommen, welche vielleicht durch Degeneration usw. eine von der ursprünglichen abweichende Form angenommen haben, bleibt zu entscheiden. Jedenfalls müssen die an der Oberfläche syphilitischer Effloreszenzen schmarotzenden vom Typus abweichenden Formen vorher entfernt werden, da sie zu Fehlschlüssen leicht Anlaß geben können. Auf die Bedeutung der richtigen Art der Spirochätenabnahme ist in zahlreichen Publikationen hingewiesen worden und als Konsequenz daraus auf die Unzulänglichkeit der syphilitischen Ferndiagnose aus (in Kapillaren oder Präparaten) übersandtem Sekret. Einer Unterschätzung dieser Fehlerquelle begegnet man in der Praxis leider

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

nicht selten; und es muß immer wieder betont werden, daß die sichere Erkennung der Spirochaeta pallida nur dann gewährleistet ist, wenn alle angegebenen Vorsichtsmaßregeln beachtet werden.

Und doch hat Neumann nicht recht, wenn er glaubt, daß seine Ausführungen über die Spirochaeta cuniculi — auch wenn sie durch die vorstehenden Erwägungen zum Teil unterstrichen werden — die praktische Syphilisdiagnose am Menschen irgendwie in Frage stellen würden. Bedingung ist nur, daß eben alle Hilfsmittel angewandt werden, die dazu dienen, oberflächlich lebende und saprophytäre Formen zu vermeiden. Neben der kunstgerechten Abnahme ist bei der Untersuchung des Präparates deshalb besonders darauf zu achten, daß nur typische Spirochäten vom Pallida-Typ vorhanden sind. Nur dann, aber dann auch sicher, dürfte die Diagnose Syphilis aus der Morphologie ihres Erregers ohne Bedenken zu stellen sein.

Die Technik der Spirochätenuntersuchung hat sich immer weiter vervollkommnet und besonders die Dunkelfeldapparatur hat gerade in letzter Zeit manche Verbesserung zu verzeichnen. Bei der Untersuchung der Pallida mit dem Wechselkondensor (Leuchtbildmethode) entstehen oft dadurch Schwierigkeiten, daß die Immersion mit Trichterblende, die zur Betrachtung im Dunkelfeld dient, bei der Hellfelduntersuchung nicht benutzt werden kann. Die Herabsetzung der numerischen Apertur des Objektivs, die fürs Dunkelfeld dringend notwendig ist, vermindert die Auflösungsfähigkeit bei Hellfeldbetrachtung so bedeutend, daß oft kein brauchbares Bild zustande kommt. Es muß also dann, wenn der oft notwendige Vergleich zwischen Dunkel- und Hellfeld gewünscht wird, eine zweite Immersion zur Hand sein, oder aber die Trichterblende aus der für das Leuchtbild benutzten Immersion entfernt werden. Zum mindesten macht dies dann einige Handgriffe und eine neue Einstellung notwendig. Der Vorteil des Helldunkelfeldkondensors, Leuchtbild und Hellfeldbild miteinander direkt und beliebig oft zu vergleichen, fällt auf diese Weise fort. Darum war der Gedanke außerordentlich Erfolg versprechend, eine Immersion herzustellen, die für beide Zwecke brauchbar ist, ohne daß die Immersion herausgeschraubt oder sonstwie in ihrer Stellung zum Objekt verändert zu werden braucht.

Eine solche Immersion ist nun neuerdings von der Firma Reichert konstruiert und in den Handel gebracht worden. Hier wird die Randblende durch einfaches Bewegen eines Stellringes leicht ein und ausgeschaltet, so daß tatsächlich beides, eine Immersion mit Randblende für Dunkelfeld- und eine ohne diese Blende für Hellfeldbeleuchtung, vorhanden ist und jederzeit nach Bedarf benutzt werden kann.

Hierdurch gewinnt das Leuchtbildverfahren, dessen Wert ja vor allem in dem Auffinden spärlicher Spirochäten (und natürlich eventuell auch anderer Organismen) auch in schlecht gefärbten Präparaten besteht, noch mehr an Wert. Es wird ermöglicht, mit derselben Apparatur die Spirochäten im Dunkelfeld zu suchen und dann ohne weiteres im Hellfeld ihre morphologischen Feinheiten zu studieren.

Literaturverzeichnis.

1) Neumann, Franz, Klin. Wochenschr. Jahrg. 2. Nr. 6; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 100. — 2) Kolle, Ruppert u. Möbus, Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 135. — 3) Hoffmann, Erich, a) Handb. d. Geschlechtskrankh. Bd. 2. 1901. S. 827 u. folg.; b) Dtsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 36. — 4) Neumann, Franz, Vet. med. Dissert. Dresden-Leipzig 1922. — 5) Noguchi, Hideyo, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 14. 1912. — 6) Hofmann, Edmund, Arch. f. Derm. u. Syph. 1923. H. 2.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Eine neue intrazerebrale Methode der Impfung des Tollwutvirus[1]).

[Aus dem Moskauer Metschnikow-Institut (Direktor Prof. S. W. Korschun).]

Von **M. D. Utenkow.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Beim Impfen des Tollwutvirus in den Schädel gibt es zwei Methoden, und zwar eine subdurale und eine intrazerebrale.

Für die Praxis sind beide gleich wertvoll und bei vollkommener Technik gleich erfolgreich.

Die subdurale Methode, die im Zusammenhang mit der Trepanation steht, wurde zum ersten Mal von Roux-Pasteur (1881) angewandt und genießt noch jetzt allgemeine Anerkennung. Bei allen ihren Vorzügen hat sie aber doch folgende Unvollkommenheiten: 1) die Notwendigkeit spezieller Instrumente (z. B. Trepan, Haken, Spritze mit einer angebogenen Nadel usw.), 2) Kenntnis der Trepanationstechnik, 3) Dauer und Kompliziertheit der Operation, 4) Gefahr für den Trepanierenden, 5) der unvermeidliche Prozentsatz des Mißlingens infolge der Unvollkommenheit der Technik und der sekundären Komplikation.

Von intrazerebralen Methoden der Impfung unterscheiden wir als die wichtigsten folgende: 1) die von Leclainche-Morel, 2) von Dawson-Oschida, und 3) die von Galli-Valerio.

Als Vorzüge der ersten Methode sind die dabei gebrauchten einfacheren Instrumente (statt des Trepan der Knochenbohrer) zu betrachten, doch leidet sie im ganzen an denselben Unvollkommenheiten, wie die Methode von Roux-Pasteur. Außerdem wird das operierte Tier nicht selten von der Jacksonschen Epilepsie befallen.

Weniger erfolgreich erscheint die durch das Auge ausgeführte Methode von Dawson-Oschida, für deren Ausführung spezielle Instrumente nicht nötig sind, da man sich einer einfachen Spritze bedienen kann. Doch gibt die Einführung der Spritze durch das Foramen opticum keine volle Sicherheit, daß die Impfung des Virus ins Gehirn erfolgt, da man ohne Kontrolle arbeiten muß (d. h. ohne zu sehen und zu fühlen). Zu den vielen mißlungenen Operationen können noch die Schädigungen des Auges des Versuchstieres.

Sehr einfach ist dagegen die Methode von Galli-Valerio, bei welcher man die Spritze durch das Foramen occipitale magnum führt. Leider beeinträchtigt die unvermeidliche Beschädigung des verlängerten Markes mit ihrem tödlichen Ausgang auf dem Operationstische die Möglichkeit ihrer Anwendung.

Die vielen anderen Methoden, die nur eine Variation der oben beschriebenen darstellen, leiden auch an denselben Uebelständen, wie z. B. Benutzung der Bohrmaschine als Bohrer bei Einführung des Virus durch die Nasenhöhle u. dgl.

Unsere Methode aber basiert auf anatomischen Eigentümlichkeiten: Bei Untersuchung des Schädels des Kaninchens wenden wir unsere Aufmerksamkeit dem Schuppenteile des Hinterhauptbeins zu, und zwar hat

1) Vortrag, gehalten auf dem VII. allrussischen Bakteriologenkongreß den 26. 5. 1923.

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

uns die Feinheit und Schwammartigkeit der Knochensubstanz veranlaßt, diese Eigenschaften auszunutzen. Die ganze Technik unserer intrazerebralen Methode besteht im folgenden:

Das Tier wird mit abgezogenen Ohren und vorgebeugtem Kopfe fixiert und der Erkennungspunkt, der Hinterhauptshöcker (Protuberantia occipitalis externa) aufgesucht, das ist der hervorragendste Punkt in dem Schuppenteil des Hinterhauptbeins.

In der Gegend dieses Höckers werden die Haare rasiert und die genannte Stelle mit einer desinfizierenden Flüssigkeit benetzt, worauf mit einer gewöhnlichen 1,0 ccm-Spritze, in die vorher das Impfmaterial angesaugt war, die angegebene Fläche senkrecht durchstochen wird. Nachdem man durch Befühlen sich überzeugt hat, daß kein Hindernis besteht, und die Nadel so bewegend, daß die Knochensubstanz wirklich durchgestochen ist, wird dann der Inhalt der Spritze in die Schädelhöhle eingeführt, dann die Spritze schnell herausgenommen und die Stelle des Durchbruchs mit einer desinfizierenden Flüssigkeit benetzt.

Für die intrazerebralen Impfungen ist Cat-Box sehr anwendbar, da in diesem Falle das Tier gut fixiert wird und die ganze Operation ohne Gehülfen vollzogen werden kann, indem man das Tier an den Ohren hält. Dieser Cat-Box ist ein Kasten mit einer runden Oeffnung für den Hals des Tieres (O) mit verschiebbarem Deckel (A) in der Hälfte der Querseite (B). Das Tier wird in den offenen Kasten gesetzt in der Weise, daß sein Hals in die Einkerbung (C), die in der Querseite ausgeschnitten ist, kommt. Danach wird von oben die verschiebbare Hälfte der Querseite und der Kasten mit dem Deckel (A) geschlossen. Auf diese Weise wird der Hals des Tieres fest umfaßt und sein Kopf in unbewegliche Lage gebracht.

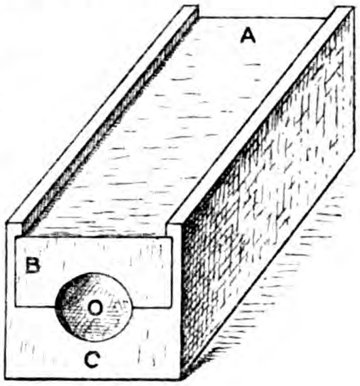


Fig. 1.

Das den Durchstich des Hinterhauptshöckers zuweilen, infolge der vorkommenden individuellen Härte und Dicke erschwerende Hindernis ist leicht durch stärkeren und tieferen Einstich der Nadel zu überwinden. Auch kann man in diesen Fällen mit gleichem Erfolg die den Hinterhauptshöcker umgebende Fläche benutzen.

Die Fläche des Hinterhauptshöckers schwankt je nach der Gattung, dem Geschlechte, Alter und der Individualität und hat im Durchschnitt einem Radius von 4—8 mm beim Kaninchen. Die ist besonders für die Operation vorzuziehen, weil unter dem Hinterhauptshöcker das Kleinhirn oder richtiger der wurmartige Teil desselben liegt, welches in funktioneller Beziehung wichtiger als das Großhirn oder das verlängerte Mark ist, weniger auf Trauma reagiert.

Während die Ausschaltung des ganzen Kleinhirns zu Hypotonie, Ataxie und choreischen Krämpfen führt und die Ansschaltung des wurmartigen Teils eine schwächere Wirkung erzeugt (und zwar tonisches Zusammenziehen der Hinterhauptsmuskeln und Vorderpfoten mit darauf folgender Parese der Hinterpfoten), hat der experimentelle Durchstich keine Folgen, wie unsere Versuche mit dem Eindringen der Nadel in die Substanz des Kleinhirns in verschiedene Tiefe (einige mit vitaler Färbung des Kleinhirns mit Methylenblau) uns gelehrt haben und da das Trauma der Haut durch den Durchstich unbedeutend ist und keine Komplikationen hervorruft.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Außerdem hat der Hinterhauptshöcker noch den Vorzug, daß keine wichtigen Blutgefäße unter ihm liegen und der Durchgang der Nadel in die Dura mater und ins Kleinhirn keine merkbaren Blutergüsse hervorruft. Tritt man aber aus dem Umkreise des Hinterhauptshöckers ein wenig näher zu den Grenzen der Hinter- und Vorderhauptsknochen hinaus, so ist hier das Eindringen in die Sinus sagittalis oder transversus möglich, was Bluterguß zur Folge hat.

Erfolgt der Durchstich des Hinterhauptbeins außerhalb der Grenzen des Hinterhauptshöckers und unterhalb der Protuberantia occipitalis externa, so kann eine tödlich wirkende Beschädigung des verlängerten Marks erfolgen. Dagegen kann man bei seitlichen Abweichungen, z. B. längs der Linea nuchae superior, beim Einstich auf beträchtliche Muskelschichten stoßen, wogegen der eigentliche Hinterhauptshöcker keine Muskeldecke hat.

Der Erfolg unserer Methode hängt davon ab, ob die Knochensubstanz durchstochen ist, oder nicht. Wie schon erwähnt, braucht man ein tieferes Eindringen der Nadel nicht zu fürchten. Im gegebenen Falle ist es besser zu tief, als nicht genügend tief einzudringen, da das Kleinhirn das Eindringen der Nadel bis zum Corpus medullare zuläßt.

Zum Schluß sei noch gesagt, daß unsere Methode bei Prüfung auf der Pasteurschen Abteilungsstation des Metschnikowschen Instituts erfolgreiche Resultate ergeben hat. Sie kann, dank ihrer Einfachheit und Sicherheit, keiner der oben angeführten intrazerebralen Methoden gleichgestellt werden, auch steht sie keinesfalls der klassischen Methode von Roux-Pasteur nach. Ja man kann sogar behaupten, daß unsere Methode der subduralen vorzuziehen ist, und zwar wegen ihrer Einfachheit wie auch durch das Erzielen einer besseren Aseptik und eines kleineren Trauma beim Tiere.

Unsere weiteren Versuche haben gezeigt, daß unsere Methode nicht nur an Kaninchen mit Tollwutvirus angewendet werden kann, sondern auch an kleinen Versuchstieren und Vögeln mit beliebigem Infektionsmaterial.

Es ist daher die von uns vorgeschlagene intrazerebrale Methode außerordentlich einfach, leicht durchführbar und sicher und verdiente infolgedessen große Aufmerksamkeit und eingehende Prüfnng.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Diagnostik des Bac. pyocyaneus.

[Aus der Veterinär-bakteriologischen Untersuchungsstelle bei der Prosektur in Troppau, Čechoslov. Rep.]

Von Dr. **E. Januschke.**

Außer den bekannten Eigentümlichkeiten zeigt der Bac. pyocyaneus folgendes, meines Wissens unbeschriebenes Verhalten in einigen Spezialnährböden, das, wenn es sich auch zum Teil aus schon bekannten Eigenschaften ableiten läßt, hier kurz erwähnt sei: Barsiekow I: Rötung und Gerinnung in 24 Std. — Barsiekow II, Rohr- und Malzzucker-Lackmus-Nutroselösung: Bläuung in 24 Std. — Hetsch-Lösung: Nach 36—72 Std. in den unteren $^2/_3$ gelb, im oberen $^1/_3$ grün gefärbt; nach einigen Tagen die oberen $^2/_3$ blaugrün, das untere $^1/_3$ dunkelrot; später einheitlich blaugrüne Färbung.

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Für die Diagnostik sind also charakteristisch: die Beweglichkeit, die Produktion eines grünen Farbstoffes und von Alkali (Ammoniak nach Neißer), von proteolytischen und hämolytischen Fermenten; das Fehlen der Indolbildung, die Aufspaltung von Traubenzucker und Farbumschlag in Hetsch-Lösung. Beimpft man nebeneinander Bouillon, Hetsch- und Barsiekow I- und II-Lösung, so erhält man in 2—3 Tagen die Farbenreihe grün, gelb, rot, blau.

Das morphologisch, kulturell und biochemisch sonst gleiche Bact. fluorescens liquefaciens läßt dagegen in bunter Reihe sowohl die Grünfärbung der Bouillon als auch die Gelbfärbung der Mannitlösung vermissen; erstere bleibt in der Farbe unverändert, letztere weist eine Mißfärbung mit bläulichen und gelblichen Tönen auf.

Nachdruck verboten.

Eine Laboratoriumsinfektion mit Maltafieber.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsabteilung (Leiter: Prof. Dr. C. Prausnitz) des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

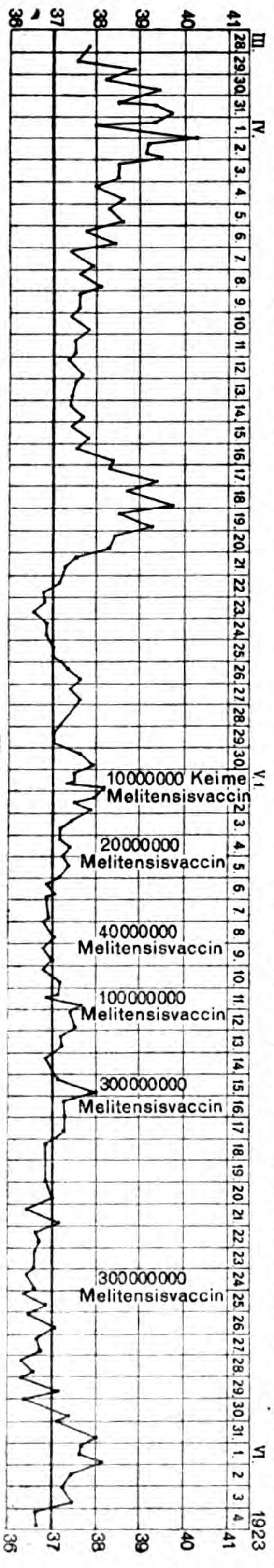
Von Dr. **Werner Koose,** Volontärassistent am Institut.

Mit 1 Kurve im Text.

Trotz aller Vorsichtsmaßregeln kommen gelegentlich Laboratoriumsinfektionen beim Arbeiten im bakteriologischen Laboratorium vor. Die Mehrzahl von ihnen ist durch Unvorsichtigkeit bedingt, bei manchen handelt es sich aber um Zufälligkeiten, die nicht vorhergesehen werden konnten. In der Reihe der Infektionen stehen wohl an erster Stelle solche mit Typhus, Diphtherie, dann folgen Rotz, Pest, Cholera, Maltafieber, Fleckfieber und andere. Es ist das große Verdienst von Kißkalt gewesen, diese Fragen eingehend zu bearbeiten und die Ergebnisse seiner Untersuchungen zu veröffentlichen. Es kann wohl auch keinem Zweifel unterliegen, daß mancher Fall von Tuberkulose bei Laboratoriumsarbeitern eine ähnliche Ursache gehabt hat. Die Veröffentlichung eines jeden derartigen Falles erscheint geboten sowohl aus theoretischem Interesse wie auch besonders, um die im Laboratorium Arbeitenden immer wieder an die Notwendigkeit peinlichster Befolgung aller Vorsichtsmaßregeln zu erinnern.

Ueber Laboratoriumsinfektionen mit Maltafieber ist noch nicht viel bekannt. Doch kann an der hohen Infektiosität dieser Erreger nicht gezweifelt werden. Soweit aus der spärlichen Literatur ersichtlich ist und durch persönliche Nachforschung von Herrn Prof. Prausnitz festgestellt werden konnte, kommen teils Infektionen vom Munde aus (durch Verschlucken des Infektionsmaterials), teils wahrscheinlich durch Inhalation, teils auch durch Hautwunden vor. Am bekanntesten ist wohl der tragische Fall des englischen Forschers Allan Macfadyen: Zur Gewinnung eines möglichst ungeschädigten Endotoxins wurden Melitensis-Bakterien mit flüssiger Luft gefroren, feinst vermahlen und dann zentrifugiert. Bei diesem Mahlprozeß erfolgte durch die Nachlässigkeit eines Gehilfen eine Versprühung des Bakterienmaterials, das noch dazu durch Tierpassage dauernd auf höchster Virulenz gehalten wurde. Macfadyen und zwei seiner Gehilfen erkrankten, der Forscher selber starb. Von einer Selbstinfektion vom Munde her berichtet Bas-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Kurve 1.

sett-Smith (Inkubation 6 Tage). Die Mundinfektion wird natürlich am häufigsten durch Pipettieren bei der Agglutinationsprüfung von Krankenseren usw. erfolgen. Diese Infektionsart läßt sich jedoch, wie Ronchèse und andere gezeigt haben, ohne Beeinträchtigung der Untersuchungsergebnisse durch Verwendung formalinisierter Kulturen zur Widalschen Reaktion vermeiden. In einem anderen Falle erfolgte die Infektion von der Conjunctiva aus (Inkubation 5 Tage). Dann liegen noch einige Berichte über Einimpfung des Krankheitserregers durch die Haut vor: Birt und Lamb sahen eine Infektion nach versehentlichem Stich mit infizierter Kanüle (Inkubation 15 Tage), einen weiteren Fall, wo die Schutzwirkung einer vorhergegangenen Melitensis-Schutzimpfung durch Nachinfektion von lebendem virulenten Material geprüft werden sollte — und nach 16 Tagen zur Erkrankung führte. Pollaci berichtet über experimentelle transkutane Infektion beim Menschen mit 20-täg. Inkubation.

Eine weitere tödliche Infektion, bei der die Eintrittspforte allerdings nicht festgestellt werden konnte, betraf einen Arzt in einem Londoner Laboratorium, der eine Melitensis-Kultur durch Tierpassage in der Virulenz zu steigern versuchte. Endlich sei die tödliche Selbstinfektion des Forschers Carbone erwähnt, über die mir keine Einzelheiten bekannt sind.

Ich lasse nunmehr den Bericht über meine Infektion folgen, die interessanterweise nicht mit einer frisch durch Tiere passierten Kultur erfolgte, sondern mit einem Stamm aus der Králschen Sammlung, der nach liebenswürdiger Mitteilung von Herrn Prof. Přibram während des Krieges auf der Balkanhalbinsel herausgezüchtet und seitdem dauernd auf künstlichen Nährböden gehalten worden war.

Zur Prüfung des Agglutinationsvermögens einiger Sera schwemmte ich am 19. März 1923 ein gut bewachsenes 3-täg. Schrägagarröhrchen mit 0,8-proz. Kochsalzlösung ab. Beim Quirlen des senkrecht gehaltenen Röhrchens zwischen beiden Handflächen zerbrach das dünnwandige Reagenzglas, und 4 Glassplitterchen drangen wenige Millimeter tief in die linke Hohlhand ein; die kleinen Wunden wurden sofort von der Bakterienaufschwemmung benetzt. Unmittelbar danach desinfizierte ich mich gründlich in 1-prom. Quecksilberoxydcyanatlösung, wobei ich die Wunden gründlich ausbluten und die Desinfektionsflüssigkeit längere Zeit einwirken ließ; die kleinen Wunden heilten in wenigen Tagen glatt. Schon am 24. und 25. März zeigten sich die ersten Erscheinungen in einem starken Müdigkeitsgefühl (Kurve 1). Am 28. März, d. h. 9 Tage nach der Infektion, begann die eigentliche Erkrankung mit Fieber, allgemeinem Krankheitsgefühl und rasch zunehmender Schwäche, die zur Bettruhe zwang. Während der ersten Tage des Fiebers waren einige Lymphdrüsen der linken Achselhöhle

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

etwa bohnengroß geschwollen und empfindlich. Von sonstigen Erscheinungen waren nur eine Herzarhythmie (Aussetzen etwa jedes 4. Pulses) und eine leichte subikterische Färbung der Augenbindehaut zu nennen, die in wenigen Tagen verschwanden. Ueber den wellenartigen Fieberverlauf, der erst nach über 2 Mon. abklang, unterrichtet die beigefügte Kurve. Wie man sieht, folgte auf die erste, 12 Tage währende, Periode ein subfebriler Zwischenraum von einer Woche, dann trat eine erneute Erhöhung von etwa 1-wöchiger Dauer auf, und schließlich folgten noch 5 etwas unregelmäßige kleinere Wellen, die letzte am 31. Mai, d. h. etwas über 2 Wochen nach der vorletzten Welle. Während des 2. Schubes war die Milz schmerzhaft und vorübergehend tastbar, man hörte perisplenitisches Reiben. Die für Maltafieber sonst als typisch beschriebenen Gliederschmerzen, neuritischen Beschwerden und Schweißausbrüche traten nicht auf.

Ein Teil der später beobachteten Temperatursteigerungen ist wohl auf die Vakzinebehandlung zurückzuführen, die auf den Rat von Herrn Prof. Rosenthal ausgeführt wurde. Verwendet wurde die durch Erhitzen auf 56° abgetötete Kultur, mit der die Infektion erfolgt war. Nach Abklingen der 3. und noch in der 4. Fieberwelle wurden 10 Mill. gespritzt: erneuter Temperaturanstieg auf 38,2°. Dann folgten am 4. Tage 20 Mill., am 8. Tage 40 Mill., am 11. Tage 100 Mill., am 15. Tage 300 Mill. und am 24. Tage nochmal 300 Mill. Auf die Injektion von 100 Mill. trat ein Anstieg auf 37,7° ein, auf die 1. Injektion von 300 Mill. ein Anstieg auf 38° mit handflächengroßer Lokalreaktion. Die übrigen Einspritzungen riefen keine örtlichen oder Allgemeinerscheinungen hervor. Die letzte Fieberwelle trat 1 Woche nach der letzten Vakzineeinspritzung, 73 Tage nach Beginn der Erkrankung, auf; sie schloß sich unmittelbar an einen schweren Sturz mit dem Fahrrade an; ob sie die Folge davon war, sei dahingestellt. Seit über 6 Mon. bin ich nunmehr gesund geblieben. Den Herren Privatdozent Dr. Meißner, Prof. Dr. Rosenthal und Dr. Seeliger sage ich an dieser Stelle für ihre sorgfältige und liebenswürdige Behandlung den herzlichsten Dank.

Die bakteriologische Diagnose wurde durch den Nachweis des Bacterium melitense im strömenden Blute während der 1. Fieberwelle gesichert. Wiederholte spätere Untersuchungen des Blutes, des Harns, sowie auch des Stuhles waren negativ. Mein Serum zeigte am 10. April, d. h. am 12. Krankheitstage, den höchsten Agglutinationstiter von 1 : 320; das ist ein Titer, wie er auch bei normalen Personen gegenüber diesem Stamm von mir gelegentlich gefunden worden ist.

An dieser Stelle sei auf die bemerkenswerte Beobachtung hingewiesen, daß bei dem Versuch der Herstellung eines agglutinierenden Serums für diesen Stamm ein Kaninchen 4 Tage nach der intravenösen Einspritzung von $^1/_5$ Oese bei 58° abgetöteter Kultur eine Lähmung der Hinterbeine zeigte, die nach weiteren 5 Tagen unter aufsteigender Lähmung zum Tode führte. Aehnliche Erscheinungen wurden von Donzello und De Nunno nach Injektion lebender Melitensis-Kulturen bei Kaninchen beobachtet. Doch traten bei dem letzten Forscher, der mit einer wenig virulenten Kultur arbeitete, die Symptome erst 2 Mon. später auf. Eine neurotrope Wirkung des Bacterium melitense oder seiner Endotoxine, wie sie u. a. De Nunno und Donzello bei ihren Tierversuchen regelmäßig feststellten, ist auch nach klinischen Beobachtungen anzunehmen. Sie würde die für Maltafieber charakteristischen rheumatischen Schmerzen und Neuritiden erklären. Grocco hat einen bulbären Typ der Krankheit beobachtet, Samut stellte bei einer Landryschen Paralyse die Anwesenheit von Bacterium melitense fest.

Nach dem Vorhergehenden dürfte an der Aetiologie meiner Erkrankung kein Zweifel sein. Es fragt sich nur, ob die Infektion durch eine Ungeschicklichkeit beim Pipettieren der Kulturaufschwemmung bei Gelegenheit der zahlreich von mir ausgeführten Serumagglutinationsprüfungen erfolgt sein kann, oder ob die Krankheitskeime von den Hautwunden her eingedrungen sind. Gegen die erste Möglichkeit spricht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Umstand, daß ich bei gleichzeitig ausgeführten großen Untersuchungsreihen mit Typhus- und Ruhrkulturen keine Infektion erlitten und mit Rücksicht auf die Gefahr dieser Arbeiten dauernd mit größter Vorsicht gearbeitet habe. Die Pipetten waren stets mit einem am Mundende eingeführten Wattestopfen gesichert. Für die Auffassung, daß die Infektion von den Hautwunden aus erfolgte, spricht mit größter Wahrscheinlichkeit die gleichzeitig mit der ersten Fieberwelle eingetretene entzündliche Schwellung der regionären Lymphdrüsen. Es wurde noch der Versuch gemacht, das Krankheitsbild künstlich nachzuahmen, indem einem Meerschweinchen in die enthaarte und skarifizierte Bauchhaut kleinere Mengen der verwendeten lebenden Kultur kräftig eingerieben wurden. Doch traten keine Krankheitserscheinungen und im Serum keine Agglutinine gegen Bacterium melitense auf. Aus den Organen des 10 Wochen später getöteten Tieres waren die Bakterien nicht zu züchten. Diese negative Beobachtung, die wegen der Gefährlichkeit der Versuche nicht wiederholt wurde, kann jedoch an der Möglichkeit der perkutanen Infektion des Menschen nach den gemachten Beobachtungen nichts ändern.

Zusammenfassung.

Es wird über eine Laboratoriumsinfektion mit Bacterium melitense berichtet, bei der die Erreger mit größter Wahrscheinlichkeit durch kleine Hautwunden eingedrungen sind. Der Fall verlief typisch, aber gutartig.

Literatur.

Babes, Kolle-Wassermann, 1. Aufl. Bd. 3. 1903. S. 440. — Bassett-Smith, Menses Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 3. 1914. S. 349. — Birt and Lamb, Lancet. Vol. 2. 1899. p. 701. (zit. nach Babes). — Donzello, V. Riun. d. Soc. Ital. di Patol. 1908. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1909. S. 677). — Kißkalt, Ztschr. f. Hyg. Bd. 80. 1915. S. 145. — Kolle-Hetsch, Exp. Bakteriol. 6. Aufl. Bd. 1. 1922. S. 456. — Luger, Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 321. — Pollaci, V. Riun. d. Soc. Ital. di Patol. 1908. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1909. S. 676.) — Ronchèse, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 89. 1913. p. 210. — Samut, Journ. Roy. Army med. Corps. Vol. 16. 1911. p. 77.

Nachdruck verboten.

Ueber Paratyphus und Typhus bei Vögeln.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Petersburger landwirtschaftl. wissenschaftl. Instituts (Leiter Prof. M. Tartakowsky).]

Von Prof. Dr. **B. Ebert** und **O. Schulgina.**

Die Erkrankungen der Vögel nehmen unser Interesse schon seit langem aus verschiedenen Gründen in Anspruch. Abgesehen von der Vogelzucht, die eine große Bedeutung für das Wirtschaftsleben verschiedener Länder hat, und der die Vogelseuchen einen großen Schaden bringen, spielen die an einer für den Menschen ansteckenden Krankheit leidenden Vögel eine wichtige Rolle in epidemiologischer Hinsicht. Die Fähigkeit der Vögel, mit ungeheuerer Geschwindigkeit große Entfernungen zu durchfliegen, ihr Aufenthalt in der Nähe des Menschen, die Schwierigkeit, Abfallstoffe, die den Vögeln manchmal als Nahrung dienen, vor ihnen zu schützen, macht die kranken Vögel unvergleichbar

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gefährlicher in bezug auf die Seuchenverbreitung, als irgendwelche anderen Tiere, den Menschen inbegriffen.

Das ist aber noch nicht alles: nach den neuesten Untersuchungen von A. Maximoff und S. Mjassojedoff, die im histologischen Laboratorium des obengenannten Instituts ausgeführt wurden, hat das leukopoetische System der Vögel scharf ausgesprochene Baueigenheiten vom anatomischen und histologischen Standpunkt aus. Dieser Umstand begründet seinerseits die Annahme, daß bei den Vögeln sowohl die Leukopoese als auch die mit ihr nahe verbundenen Prozesse der Infektion und der Immunität, etwas Spezifisches in ihrem Verlaufe und ihrer Entwicklung haben können.

Im Zusammenhang mit den oben erwähnten Ueberlegungen haben wir uns entschlossen, die Untersuchung der infektiösen bakteriellen Erkrankungen bei den Vögeln durchzuführen — eine Aufgabe, auf die unser Laboratorium schon längst die Aufmerksamkeit gelenkt hatte.

Zunächst beschäftigten wir uns mit der serologischen Untersuchung des B. loxiacid., welches von M. Tartakowsky (1898) aus kranken Kreuzschnäbeln (Loxia curviorostra) gezüchtet wurde, bezüglich seines Verhaltens zum B. psittacosis, B. paratyphi A und B und B. enteritidis Gärtner; ferner wollten wir feststellen, wie häufig man bei den Vögeln Infektionen trifft, welche durch die verschiedenen Erreger aus der Coli-Typhus-Gruppe verursacht werden. Wir benutzten als Material eine Sammlung lebender Bakterienkulturen, die von M. Tartakowsky aus Vögeln gezüchtet wurden, die an septischen Darmentzündungen litten. Wir müssen darauf aufmerksam machen, daß bei der Untersuchung der Gärungsfähigkeit der Bakterien weder Dulzit noch Sorbit noch Arabinose angewandt wurde, wie aus unseren Ergebnissen zu ersehen ist, da es uns unmöglich war, diese Stoffe zu beschaffen. Wir erwähnen Dulzit, Sorbit und Arabinose, weil gerade diese Stoffe von W. Pfeiler und E. Röpke zur Differenzierung der Erreger des Hühner- und Ferkeltyphus vom B. typhi abdom. empfohlen wurden; doch werden diese sogenannten „Typhen“ schon serologisch vom Typh. abdom. unterschieden.

Andererseits geben uns die Untersuchungen Tworts (über die Milchzuckergärung, die durch das Bact. typhi abdom. unter gewissen Bedingungen hervorgerufen wird), und Pechams (die Fähigkeit desselben Bact. typhi abdom., unter bestimmten Umständen Indol zu bilden) Anlaß zu behaupten, daß man allein auf Grund des Vorhandenseins oder Fehlens von Zucker- und Alkoholgärungsfähigkeit noch keine Diagnose stellen darf. In dieser Hinsicht muß man mit Nieter übereinstimmen in bezug auf die Untersuchungen Mandelbaums, der es für möglich hielt, die Unterarten des B. typhi (B. metatyphi) festzustellen auf Grund der Fähigkeit des von ihm isolierten Stammes, Glyzeringärung unter Säurebildung hervorzurufen. Wir nehmen deshalb an, daß auch in den Ergebnissen der von uns gemachten Untersuchungen über die biologischen Eigenschaften der Bakterien auch genügend Material zu differentialdiagnostischen Zwecken vorhanden ist.

Die Untersuchungen wurden in folgender Reihenfolge gemacht: alle zur Untersuchung bestimmten Kulturen wurden auf Agar und Gelatine ausgesät; die die Gelatine nicht verflüssigenden Bakterien wurden der Probeagglutination mit B. paratyphi A und B, Typhi- und Gärtner-Seren ausgesetzt. Diejenigen Kulturen, die schon im Vorversuch einen positiven Erfolg gaben, wurden eingehend bis zum Titer

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ausgewertet und im Komplementbindungsversuch geprüft mit Ergänzung beider Reaktionen durch den Castellanischen Absorptionsversuch.

Unsere Arbeit zerfällt somit in zwei Teile: 1) in Untersuchungen über die B. loxiacida und 2) in Untersuchungen über die Erkrankung der Vögel an septischen Darmentzündungen infolge einer Infektion durch Bakterien aus der Coli-Typhus-Gruppe. Und da wir als Erreger der septischen Darmentzündungen die B. paratyphi B und B. typhi abdom. fanden, so zerfiel auch der zweite Teil in zwei Unterabteilungen: a) über den Paratyphus, b) über den Typhus bei den Vögeln. Vorausgeschickt sei ein kurzer Ueberblick über die bisher in der Literatur zu dieser Frage vorliegenden Arbeiten.

I. Ueber die B. loxiacida.

1898 hielt M. Tartakowsky in der Biologischen Sektion der „Gesellschaft zum Schutze der Volksgesundheit“ einen Vortrag „Ueber eine Infektionskrankheit der Kreuzschnäbel und der anderen Zimmer- und Singvögel“. Dieser Vortrag enthielt eine Mitteilung über eine Seuche, die er unter den Kreuzschnäbeln, Tannenmeisen, Stieglitzen, Zeisigen und seltener bei den Kanarienvögeln beobachtet hatte. Die von dem genannten Autor aus den Organen der kranken und gefallenen Kreuzschnäbel isolierten Kulturen waren für diese Vögel auch bei der Fütterung per os virulent und zeigten eine große Aehnlichkeit mit dem B. psittacosis, allerdings bestanden einige, wenn auch unbedeutende Differenzen, die seiner Meinung nach die B. loxiacida vom B. psittacosis unterscheiden lassen. Gleichzeitig weist er auf eine Aehnlichkeit zwischen dem Bild der Papageienpsittacosis und der von ihm beobachteten Krankheit der Kreuzschnäbel hin und erörtert schließlich, unter welchen Voraussetzungen eine Uebertragung der Infektionskrankheiten der Vögel, außer der Psittacosis, die bereits früher erwähnt wurde, möglich ist.

Wie wir schon in der Einleitung erwähnten, war unsere erste Aufgabe, das Verhältnis des B. loxiac. zum B. psitt. festzustellen. Zunächst sei es gestattet, das Verhältnis des B. psitt. zu der Gruppe der Paratyphusbakterien nach den Literaturangaben zu besprechen. Wir finden hierüber Angaben bei Eckersdorf, Durham, de Nobele, Saquepée. Nach dem ersten Autor wird der B. psittacosis durch Psittacosisserum, aber nicht durch Paratyphusserum agglutiniert, d. h. er erscheint vom serologischen Standpunkte aus als eine abgesonderte Art. Durham und Nobele nehmen eine sehr nahe Verwandtschaft des B. psittacosis mit dem Fleischvergiftungsbazillus Typus Aertryk an, weil: 1) B. psittacos. in hohen Verdünnungen durch das Serum von Menschen agglutiniert wird, die eine Fleischvergiftung überstanden haben, 2) das künstlich mit Hilfe der Immunisierung durch Bakterien erhaltene Immunserum den B. psittacosis bis zu hohen Titern agglutiniert.

Saquepée kam auf Grund von Komplementbindungsversuchen zu dem Schluß, daß eine äußerste Verwandtschaft, vielleicht sogar Identität zwischen dem B. psittacosis und den anderen Bakterien der Paratyphusgruppe besteht. Abgesehen von Eckersdorf, der scheinbar mit einem wenigstens im Sinne der antigenen Eigenschaften atypischen Stamme des B. paratyphi zu tun hatte, sind alle Autoren einig in bezug auf die Stellung B. psitt. im System der Mikroorganismen, und es ist kein Zufall, daß Achard und Bensaude[1]) geneigt waren, den ersten von ihnen beschriebenen Fall des Paratyphus beim Menschen zur Psittakose zu rechnen.

Nach all dem Gesagten ist es begreiflich, daß Uhlenhuth und Hübener keinen Grund zur Absonderung des B. psitt. finden und ihn in biologischer Hinsicht für identisch mit dem B. parat. B halten.

Eigene Untersuchungen.

Zunächst bestimmten wir die Titer der agglutinierenden Loxiacida- und Psittacosis-Sera, die wir selbst hergestellt hatten, und die die uns zur Verfügung stehenden Paratyphus- und Gärtner-Sera gegen B.B. paratyphi B, loxiac. und psittacosis; mit Gärtner-Serum bekam man keine Agglutination (außer winzigen positiven Reak-

1) Zit. nach Handb. d. pathog. Mikroorg. 1913. Bd. 3. S. 1092 (Kolle und Wassermann).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tionen, die einen Gruppencharakter hatten), weder mit B. paratyphi B, noch mit B. loxiac., noch mit B. psittac. Alle anderen Sera reagierten mit allen Stämmen agglutinatorisch ungefähr gleich; es ließen sich also auf diese Weise die B. loxiac. und B. psittac. sowohl voneinander, als auch vom B. paratyphi B nicht unterscheiden (Tabelle I). Anderes ergab sich bei der Komplementbindungsreaktion[1]): während hier sowohl B. psittac. als auch B. loxiac. sowohl mit den homologen als auch den gekreuzten Sera identisch reagierten, war die Reaktion derselben Stämme mit dem Paratyphus-B-Serum unvergleichlich weniger scharf; die Kultur des B. paratyphi B reagierte am

Tabelle I.

Folgende Sera wurden untersucht:	Agglutinationstiter gegenüber		
	B. psittacosis	B. loxiacida	B. paratyphi
Psittacosis-Serum	12 000	14 000	12 000
Loxiacida-Serum	10 000	9 000	10 000
Paratyphus B-Serum	10 000	8 000	9 000

Tabelle II.

Folgende Sera wurden untersucht:	Bezeichnung des Antigens															
	B. psittacosis				B. loxiacida				B. paratyphi B				B. typhi abd.			
B. psittacosis-Serum	4	4	2	—	4	4	1	—	3	1	—	—	—	—	—	—
B. coxiacida-Serum	4	1	4	3	4	4	4	3	2	1	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi B-Serum	2	4	—	—	3	1	—	—	—	1	3	—	+	—	—	—
Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion mit Psittacosis-, Loxiacida- und Paratyphi B-Sera)

Tabelle III.

Bezeichnung der zur Absättigung des Psittacose-Serums gebrauchten Kulturen	Das abgesättigte Serum wurde ausgewertet mit:											
	B. psittacosis				B. loxiacida				B. paratyphi R			
	Verdünnungsgrad des Serums											
	$^1/_{200}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{200}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{200}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$
B. psittacosis	++	+	—	—	+	—	—	+	+	—	—	—
B. loxiacida	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi B	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Normalserum	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

1) Bei der Komplementbindungsreaktion wurden die Antigene folgenderweise vorbereitet: 1—2 Oesen der 24-std. Agarkultur der entsprechenden Bakterienart wurden an der Wand des Probierglases, das 4,5 ccm destillierten Wassers enthielt, zerrieben, das Probierglas wurde 1 Stunde bei 56° im Wasserbad erwärmt und nachher in den Thermostaten für 24 Stunden gestellt. Unmittelbar vor der Arbeit wurde in ein jedes Probierglas je 0,5 ccm 8,5 Proz. NaCl zugeführt. Dem Versuch ging das Austitrieren der Antigene und der Sera voraus. Dabei ist zu bemerken, daß wir mit fallenden Dosen des Antigens und mit einer bestimmten Dose des Serums arbeiteten. Die erste und größte Dose des Antigens war im Vorversuch, wie gesagt, austitriert. Jede folgende Dose des Antigens war zweimal geringer als die vorhergehende. Ein jeder Versuch enthielt eine Kontrolle aller Antigendosen mit Normalserum. Die Antigene aller Arten waren fast identisch in bezug auf ihre selbsthemmenden. Wirkungen, unter der Bedingung, daß alle Emulsionen gleichmäßig dick vorbereitet wurden. Die Zahlen in der zweiten, dritten, wie auch in den anderen Tabellen bedeuten die Zahl der Kreuze (+), d. h den Hemmungsgrad.

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle IV.

Bezeichnung der zur Absättigung des Loxiacida-Serums gebrauchten Kulturen	Das abgesättigte Serum wurde ausgewertet mit:											
	B. loxiacida				B. psittacosis				B. paratyphi B			
	Verdünnungsgrad des Serums											
	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000
B. loxiacida	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. psittacosis	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—
B. paratyphi B	++	+	—	—	++	++	+	+	+	—	—	—
Das native Serum	++	++	+	—	++	++	++	+	++	++	+	—

Tabelle V.

Kulturen, mit denen das Paratyphus B-Serum abgesättigt wurde	Das abgesättigte Serum wurde ausgewertet mit:											
	B. paratyphi B				B. psittacosis				B. loxiacida			
	Verdünnungsgrad des Serums											
	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/500	1/1000	1/2000	1/4000
B. paratyphi B	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—
B. loxiacida	++	++	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—
B. psittacosis	++	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—
Das native Serum	++	++	+	+	++	+	+	+	++	++	+	+

Tabelle VI.

Kulturen, mit denen das Psittacose-Serum abgesättigt wurde	Das abgesättigte Serum wurde im Komplementbindungsversuch mit folgenden Kulturen geprüft:											
	B. psittacosis				B. loxiacida				B. paratyphi B.			
B- psittacosis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. loxiacida	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—
B. paratyphi B	4	3	—	—	4	4	4	3	—	—	—	—
Das native Serum	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3

schärfsten mit dem homologen Serum und weniger deutlich mit dem Psittacosis- und Loxiacida-Serum.

Die Tabellen III, IV, V und VI enthalten die Ergebnisse der Absättigungs- und der Komplementbindungsversuche mit Parat. B, Loxiac. und Psittac.

Bei den Seren, die zunächst mit den homologen und alsdann mit den heterologen Kulturen abgesättigt wurden, ergeben sich wieder die Unterschiede zwischen dem B. psittac. und dem B. loxiac. einerseits und dem B. paratyphi B andererseits, und zwar haben die durch Kulturen von B. psittac. oder B. loxiac. abgesättigten Psittac.- und Loxiac.-Sera ganz oder fast ganz ihre Agglutinine nicht nur gegen dieselben Kulturen, sondern auch gegen den B. parat. B verloren; während die gleichen Sera, wenn sie durch B. paratyphi B-Kultur abgesättigt wurden, nur den B. parat. B nicht, dagegen B. loxiacida sowohl wie B. psittac. deutlich agglutinierten.

Wie aus der entsprechenden Tabelle V zu ersehen ist, reagierte das Paratyphus B-Serum mit denselben Bakterienarten mutatis mutandis ganz analog. Die Komplementbindungsreaktion, die nach Absorption der spezifischen Antikörper ausgeführt wurde, bestätigte nur die Resultate der Agglutinationsuntersuchungen (Tabelle VI).

Wir sehen aus diesem Versuche, daß auf Grund ihrer antigenen Eigenschaften die Kulturen des B. loxiac. und des B. psittac. und

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der bei uns vorhandenen Kultur des B. paratyphi B in zwei Gruppen eingeteilt werden können: zu der einen gehören die B.B. psitt. und loxiac., zu der anderen der B. parat. B. Weiteren Untersuchungen muß es vorbehalten bleiben, inwiefern das Gesagte sich auf alle Paratyphusstämme bezieht. Wir sprechen hier nur von einer Absonderung des B. loxiac. und des B. psittac. von einem bestimmten Stamme, und zwar vom B. paratyphi B (Thot)[1].

II. Ueber Paratyphus und Typhus bei Vögeln.

1) Ueber die Paratyphusinfektion unter den Vögeln.

Es muß als eine feststehende Tatsache angesehen werden, daß die Paratyphuserreger unter den Vögeln oft gefunden werden. Sogar bei ganz gesunden Vögeln (Gänse) wurden Paratyphusbakterien gefunden, doch ist diese Beobachtung bis jetzt durch Nachuntersuchungen nicht bestätigt worden. Daß Paratyphusbakterien als Infektionserreger unter den Vögeln vorkommen können, geht aus vielen und eingehenden Untersuchungen mit Sicherheit hervor. Wir wollen hier noch bemerken, daß wir in der frühesten bakteriologischen Aera Beschreibungen von Infektionserkrankungen bei Vögeln treffen, deren Erreger auf Grund ihrer biologischen und morphologischen Eigenschaften zu keiner von den allgemeinen anerkannten Bakterienarten mit Bestimmtheit gerechnet werden können, wie z. B. die Seuchen unter den Kanarienvögeln Kerns (1896) und Riecks (1899).

Es ist auch interessant, daß es sich in den beschriebenen Seuchen um die Vögel handelt, die in einer unmittelbaren Nähe vom Menschen und seiner Wohnung leben: Kanarienvögel, Papageien, Tauben. Unserer Ansicht nach kann man dies erklären: 1) durch die größere Neigung der Vögel, die in der unmittelbaren Nähe zum Menschen und seiner Wohnung leben, zur Infektion mit Paratyphusbazillen, und 2) dadurch, daß diese Vögel für Untersuchungszwecke leichter erreichbar sind. Als Erreger von Vogelseuchen kommen hauptsächlich in Frage: 1) der B. septic. haemorrh. und 2) die Paratyphusbakterien. Letztere sind als Erreger von Seuchen unter den Vögeln beschrieben worden von Drews (bei Papageien), von Pfeiler (bei Kanarienvögeln) und von Adam und Meder (bei Kanarienvögeln).

Wenn auch die Frage, ob Paratyphusbakterien bei Vögeln Seuchen hervorrufen können, ohne Zweifel im positiven Sinne entschieden werden kann, bleibt doch der Grad der Verbreitung der Paratyphusbakterien unter ihnen nicht aufgeklärt; deswegen haben wir uns, wie oben erwähnt, entschlossen zu untersuchen, wie häufig die Bakterien der Coli-Typhusgruppe, im gegebenen Falle die Paratyphusbakterien, als Erreger septischer Darmentzündungen vorkommen. Wie bereits erwähnt, benutzten wir als Material dazu die Kulturensammlung von M. Tartakowsky. Letzterer hatte diese Kulturen aus Vögeln gezüchtet, die ihm zur Untersuchung gebracht oder auf den Marktplätzen und bei Jägern gekauft waren.

Es stellte sich heraus, daß bei der Untersuchung von 84 Kulturen (Gesamtzahl) in 13 Fällen Paratyphus B-Kulturen, d. h. in 15,4 Proz., gefunden wurden. Nach den Vogelarten ist dieser Befund folgendermaßen zu verteilen: bei Tauben 3mal, bei Kanarienvögeln 6mal, bei

[1] Leider erwies es sich, daß dieser Stamm während der weiteren Untersuchung seiner kulturellen Eigenschaften (s. S. 18) sich von den übrigen Paratyphus B-Kulturen menschlicher Herkunft wesentlich unterschied.

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Zeisigen 2mal, beim Dompfaff 1mal, beim Stieglitz 1mal. Wie aus Tabelle VII zu ersehen ist, wurden die Bakterien aus verschiedenen Organen und aus dem Blute gezüchtet, woraus hervorgeht, daß die paratyphösen Darmentzündungen der Vögel in Wirklichkeit einen septischen Verlauf haben.

Alle Kulturen wurden bei mehr oder weniger hohen Titern agglutiniert, sowohl mit dem Paratyphus B- als auch mit dem Loxiac.-Serum. Um die Frage zu lösen, ob alle diese aus Vögeln gewonnenen Stämme sich vom B. paratyphi B (Thot.) menschlicher Abstammung unterscheiden, wurden wiederholte Absorptionsversuche mit Loxiac.- und Parat.-B-Sera gemacht.

Tabelle VII.
Uebersicht über die Kulturen, die aus Vögeln isoliert wurden.

Nr.	Benennung der Vögel	Isoliert aus	Agglutination durch Parat. B.-Serum	Agglutination durch Loxiacida-Serum
1	Taube	Lunge	6000	4000
2	„	Dünndarm	8000	6000
3	Kanarienvogel	Herz	12000	6000
4	„	„	10000	8000
5	Taube	Niere	8000	16800
6	„	„	8000	8000
7	Zeisig	Milz	8000	4000
8	Kanarienvogel	Leber	10000	12000
9	Dompfaff	Milz	10000	4000
10	Kanarienvogel	„	12000	4000
11	Zeisig	„	12000	10000
12	Stieglitz	„	14000	10000
13	Kanarienvogel	„	12000	6000
14	„	„	14000	12000

Es stellte sich hierbei heraus, daß das durch B. parat. B absorbierte Loxiac.-Serum unter diesen Bedingungen seine agglutinierenden Eigenschaften gegenüber B. paratyphus B des Menschen verloren hatte, aber alle Paratyphusstämme der Vögel, B. loxiac. und B. psitt. mitinbegriffen, agglutinierte; während durch B. psitt. absorbiertes Paratyphus B-Serum alle Vogelstämme unbeeinflußt ließ und nur den B. parat. B des Menschen agglutinierte.

Hieraus folgert, daß man alles, was in bezug auf den B. loxiac. und B. psitt. gesagt wurde, auch auf alle Paratyphuskulturen, die aus Vögeln stammen, übertragen kann: sie lassen sich alle mit Hilfe des Castellanischen Absättigungsversuches von einem Paratyphusstamme menschlicher Herkunft differenzieren. Wir können allerdings nicht sagen, ob diese Folgerung Gültigkeit hat für alle anderen aus dem Menschen oder den Tieren gewonnenen Paratyphuskulturen.

Zusammenfassung: 1) Paratyphöse Infektionen kommen unter den verschiedenen Zimmer- und Zugvögeln häufig vor und haben dabei das klinische Bild der Enteritis mit Neigung zu septikämischem Verlauf. 2) Die serologischen Reaktionen geben keine Möglichkeit, den B. psitt. vom B. loxiac. und auch von den anderen aus Vögeln gezüchteten Paratyphusbakterienstämmen abzusondern. Dagegen ließ sie diese ganze Gruppe der Vogelparatyphusstämme von einem B. paratyphus B-Stamm menschlicher Herkunft serologisch differenzieren.

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

II. Ueber den Typhus bei Vögeln.

Zunächst sei betont, daß das Wort „Typhus" in bezug auf die Erkrankungen der Tiere häufig als klinischer beschreibender Ausdruck ohne jeden Zusammenhang mit der Aetiologie der Erkrankung Anwendung findet; so treffen wir in der Literatur den Hühnertyphus (Pfeiler), den Ferkeltyphus (Moor) usw. In dieser Arbeit, in der über die Typhuserkrankung bei Vögeln gesprochen werden soll, verwenden wir das Wort zur Bezeichnung der Krankheit, die durch die Bakterien hervorgerufen wird, die serologisch und, wie wir weiter ersehen werden, auch morphologisch und kulturell von dem B. typhi abdom. sich nicht unterscheiden lassen.

Die Frage über das Verhältnis des B. typhi abdom. zum Tierorganismus rief große Meinungsverschiedenheiten schon bald nach der Entdeckung dieses Erregers hervor: die einen Autoren hielten die Typhusbakterien nur für toxisch für den Organismus der Tiere und für unfähig, sich darin zu vermehren (Gaffky, Sirotinin, Beumer und Peiper, Baumgarten und sein Schüler Wolfowitsch), während die anderen (E. Fränkel und Simmonds, A. Fränkel, Chantemesse und Widal, Gilbert und Girode, Sanarelli, Scordo u. a.) in einer Reihe von experimentellen Beobachtungen unbestreitbar bewiesen, daß die Typhusbakterien nicht allein während einer längeren Zeit ihre Lebensfähigkeit im tierischen Organismus erhalten können, sondern sich darin vermehren, indem sie die pathologischen Vorgänge sowohl im klinischen als auch im pathologisch-anatomischen Sinne hervorrufen, die das Bild eines Typhus abdom. des Menschen darbieten, und auch eine Infektion durch Darreichung per os bewirken.

Typhusbakterien wurden unter natürlichen Bedingungen als Krankheitserreger bei Tieren nur 1mal festgestellt, und zwar durch Trapp in Straßburg im März 1910 in der Milz und der Leber eines Stieres, der im Schlachthause geschlachtet wurde.

Von Interesse dürfte ein Hinweis auf 2 Epidemien sein, die in einem zweifellosen Zusammenhang mit Fleischvergiftungen standen: in Adelfingen (1839) und in Kloten (1878). Sie sind deshalb von Interesse, weil die Erkrankten ein Bild darboten, welches klinisch ganz identisch mit dem Bauchtyphus war. Diese Epidemien riefen eine große Literatur hervor, wobei die Mehrzahl der Kliniker es für möglich zu behaupten fand, daß es sich eben um die Infektion der Menschen mit Typh. abdom. durch die Tiere handelte. Heute kann man selbstverständlich das klinische Krankheitsbild zu Zwecken der Beurteilung der Aetiologie der Krankheit erst unter vielen Einschränkungen verwenden und muß feststellen, daß es als allgemein anerkannte Tatsache gilt, daß man unter natürlichen Bedingungen den B. typhi abdom. als Krankheitserreger bei Tieren nicht antrifft. Mit dieser Behauptung fängt auch Kutscher sein Kapitel über die Pathogenität der B. typhi abdom. für die Tiere im Handb. d. pathogen. Mikroorganism. (Kolle und Wassermann) an.

Trotz dieser kategorischen Behauptungen hatten wir rein theoretische Gründe, die uns veranlaßten, den B. typhi abdom. als Krankheitserreger bei den Vögeln zu suchen, und zwar aus folgenden Gründen: 1) Wenn man unter den Vögeln paratyphöse Infektionen antrifft, die den Erregern des Bauchtyphus nahe stehen, so ist die Möglichkeit, daß Vogelerkrankungen, die durch eine Infektion mit Bauchtyphusbakterien bedingt sind, vorkommen können, nicht von der Hand zu weisen; 2)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als Erreger der Vogelkrankheiten sind Bazillen beschrieben, die an der Grenze zwischen dem Typhus und Paratyphus (Hühnertyphus, Fowltyphus stehen; die überaus reichliche Entwicklung des lymphatischen Gewebes bei den Vögeln begründete auch unsere Bestrebungen, einen solchen Erreger der Erkrankung des lymphatischen Systems par excellence, wie ihn der B. typhi abdom. darstellt, zu finden.

Tatsächlich ist es uns gelungen, in 4 Fällen unserer Sammlung Bazillen festzustellen, die serologisch und auch in den anderen Beziehungen identisch mit dem B. typhi abdom. sind.

Ihre serologische Untersuchung wurde nach der Methode der Kreuzimmunisierung der Tiere mit einem der von uns differenzierten Stämme (Nr. 39) parallel mit der Immunisierung mit einer Bauchtyphuskultur, die aus dem Museum unseres Laboratoriums stammte, geführt. Als Kontrolltyphusstämme wurden in einzelnen Versuchen auch solche Kulturen, wie z. B. der Stamm Leishmans verwendet, der wahrscheinlich noch jetzt zur Vakzinebereitung für die Armee des ganzen britischen Reiches diente. Die gewonnenen Sera reagierten sowohl in der Agglutinationsreaktion als auch in der Komplementbindungsreaktion ganz identisch, sowohl mit humanen Typhuskulturen als auch mit den Kulturen, die aus Vögeln isoliert wurden (s. die Tab. Nr. VIII—XI). Diese Kulturen wurden aus 3 Tauben und 1 Hahn gezüchtet, wobei, wie in den Notizen von M. Tartakowsky steht, einer von den Vögeln unter den Erscheinungen von einem choleraartigen Anfall zugrunde ging. Auch hier hatten die Erkrankungen den Charakter einer Septikämie.

Es gelang uns nicht, den B. typhi abd. des Menschen vom B. typhi der Vögel mit Hilfe des Castellanischen Versuches zu differenzieren.

Wir glauben also zu der Behauptung berechtigt zu sein, daß die Erkrankungen der Vögel an septischen Enteritiden auch durch Typhus-

Tabelle VIII.

Typhusserum (B. typhi abd. des Menschen)	Bezeichnung der ausgewerteten Kultur.					
	Nr. 39	Nr. 42	Nr. 48	Nr. 49	B. typh. abd. Král	B. parat. B. Thot.
1:500	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	—
1:1000	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	—
1:2000	+ +	+	+ +	+	+ +	—
1:3000	+	+	+	+	+ +	—
1:4000	+	—	—	—	+	—
1:5000	+	—	—	—	+	—

Tabelle IX.

Immunserum Vogelstamm Nr. 39	Bezeichnung der ausgewerteten Stämme.				
	St. Nr. 39	St. Nr. 42	St. Nr. 48	St. Nr 49	B. typhi abd. (Leishman)
1: 4000	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
1: 6000	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
1: 8000	+ +	+	+	+	+
1:12000	+	+	+	+	+
1:16000	+	—	—	—	—
1: 2000	—	—	—	—	—
Ser. nor.	—	—	—	—	—

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle X.
Komplementbindungsversuche.

Bezeichnung des Serums	Bezeichnung des Stammes, der als Antigen diente				Bemerkungen
	Nr. 39	Nr. 42	Nr. 48	Nr. 49	
Vogelstamm Nr. 39	4 4 4 4	4 4 4 4	4 4 4 4	4 4 4 4	Die Serumdosen sind so austitriert, daß die Doppeldose Hämolyse gab, außer dem Normalserum, welches eine unbedeutend. Hemmung gab. Die Antigend. sind auch i. Vorvers. nachgeprüft. Die Doppeldose aller Antigene (—) außer dem B. ent. Gärtn. (++) und dem B. psitt. (+).
B. typhi abd. Král	4 4 4 4	4 4 4 4	4 4 4 4	4 4 4 4	
Normalser.	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	
Bezeichnung des Serums	**Bezeichnung des Stammes, der als Antigen diente**				
	B. typh. abd. Král	B. typhi abd. Leishman	B. enterit. (Gärtner)	B. psitt. (Nocard)	
Vogelstamm Nr. 39	4 4 4 4	4 4 4 4	1 — — —	— — — —	
B. typhi abd.	4 4 4 4	4 4 4 4	2 1 — —	— — — —	
Normalser.	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	

bakterien hervorgerufen werden können, die serologisch sich vom B. typhi abd. des Menschen nicht unterscheiden — eine Tatsache, die Bedeutung und Interesse sowohl in bezug auf die vergleichende Pathologie, als auch auf die praktische Epidemiologie darbietet.

Auf Grund der weiter angeführten Untersuchungen über die morphologischen und kulturellen Eigenschaften der (vom serologischen Standpunkte aus) paratyphösen und typhösen Bakterienkulturen der Vögel kann man sich überzeugen, daß diese Bakterien in bezug auf die rein bakteriologischen Methoden zweifellos als typhös, resp. paratyphös anerkannt werden müssen. Ich gehe zur Auseinandersetzung der in dieser Beziehung gewonnenen Ergebnisse über.

Die oben genannten aus Vögeln gezüchteten Bakterienstämme wurden morphologisch und kulturell untersucht in bezug auf a) die Fähigkeit, Milch- und Traubenzucker zu vergären, b) Wachstumscharakter: 1) auf Gelatine, 2) auf Milch, 3) auf der Endo-Platte, 4) auf Neutralrotagar nach Oldekop, 5) Malachitgrünagar (nach Buchholz), 6) Lackmusmolke nach Petruschky, 7) auf Barsiekow-Nährboden (1— mit Milchzucker, 2— mit Traubenzucker), 8) auf flüssigen Malachitgrünnährboden nach Loeffler (1— mit Milch- und Traubenzucker, 2— mit Milchzucker, 3— mit Traubenzucker). c) auf Indolbildung. Es stellte sich heraus, daß ein Teil der untersuchten Kulturen, und zwar: B. loxiac., B. psitt. und auch alle anderen serologisch als Vogelparat. B. (14 Stämme) anerkannten Kulturen, nach den Ergebnissen des Wachstums auf den obengenannten Nährboden identisch mit den Kontrollbakterien der Coli-Typhusgruppe — [B. parat. (Busse), B. parat. B. (Thot.), B. enter. (Gärtner) und B. Danysz] waren. Bemerkt sei hier, daß der als Kontrolle dienende B. parat. B. Thot. durch Malachitgrün in den Nährböden von Buchholz und Loeffler eine stark hemmende Wirkung erfuhr, die sich im Fehlen von irgend welchen Veränderungen in den Nährböden im Verlaufe von einigen Wochen äußerte.

Der andere Teil der untersuchten Kulturen, zu dem die serologisch vom Bact. typhi abdom. sich nicht unterscheidender Bakterienstämme Nr. 39, 42, 48, 49 gehörten, waren durchaus identisch mit drei regelrechten Typhusstämmen menschlichen Ursprungs sowohl bezüglich des Wachstums auf den verschiedenen Nährböden als auch bezüglich des Fehlens von Indolbildung.

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Wir halten es für erwähnenswert, daß von den übrigen untersuchten Standardkontrollkulturen der B. typhi spermoph. Mereshkowsky eine interessante Sonderheit im Wachstumscharakter auf dem Agar nach Oldekopp und nach Buchholz aufwies. Während dieser Bazillus sich kulturell auf den sonstigen Nährböden vom B. typhi abdom. nicht unterscheiden ließ, gab er auf dem Agar nach Oldekopp eine Fluoreszenz, entfärbte später den Närboden und näherte sich in dieser Beziehung dem B. parat. A.; doch begann die Entfärbung bei ihm nicht von unten, wie bei allen anderen von uns untersuchten Bakterien, die diese Farbe reduzierten, sondern von oben. Eine gleiche Erscheinung konnte man auch auf dem Agar nach Buchholz, jedoch nach einer viel längeren Zeit, beobachten.

Die erwähnte Tatsache wurde bis jetzt, soweit uns bekannt, von niemandem notiert, und hat sowohl ein allgemeines Interesse, als auch eine spezielle Bedeutung für die Charakteristik des B. typhi spermophil.; letzterer Mikroorganismus ist auch in anderen Hinsichten vom Standpunkt der Bakteriensystematik sehr interessant.

Morphologisch ließen sich alle Kulturen, die aus Vögeln gezüchtet wurden, von den anderen Bakterien der Coli-Typhusgruppe nicht unterscheiden, indem sie im allgemeinen als kleine Stäbchen mit abgerundeten Enden, beweglich, peritrich begeißelt erschienen und sich nach Gram entfärbten.

Alle diese Auseinandersetzungen geben uns die Möglichkeit, folgende Schlußfolgerungen zu machen:

Schlußfolgerungen.

1) Bei der von uns ausgeführten genauen Untersuchung von 84 Bakterienkulturen, die zu verschiedenen Zeiten von M. Tartakowsky aus wilden und Hausvögeln, die an septischen Darmentzündungen litten, isoliert wurden, fanden wir in 15,9 Proz. (14 Fälle) Bakterien der Gruppe des B. paratyphi B. und in 4,7 Proz. (4 Fälle) Bakterien, die kulturell, biologisch und serologisch identisch mit dem B. typhi abdom. waren.

2) Der B. psittacosis zeichnet sich in bezug auf seine sowohl morphologischen, als auch biologischen und serologischen Haupteigenschaften durch nichts vom B. loxiacida und von den anderen von Tartakowsky aus Vögeln gezüchteten Kulturen der Paratyphusgruppe aus; es besteht also im ätiologischen Sinne kein Grund, aus der Psittakose eine besondere nosologische Einheit zu machen.

3) Es gelang uns, die aus Vögeln gezüchteten Kulturen der Gruppe des B. paratyphi B mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion und auch des Castellanischen Absättigungsversuches, von einer Kultur des B. parat. B (Thot.), die vom Menschen gewonnen wurde, abzusondern. Leider, wie oben erwähnt, stellte es sich bei späteren Untersuchungen heraus, daß der letztere Stamm sich in mehrfacher Hinsicht von anderen Stämmen des B. paratyphi B menschlicher Herkunft unterschied.

4) Die typhösen und paratyphösen Erkrankungen der Vögel, die als Enteritiden verlaufen, hatten in allen unseren Fällen den Charakter von Septikämien.

5) Die starke Verbreitung der Paratyphus-Infektion und der zuerst

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von uns festgestellten Typhusinfektion unter den Vögeln muß bei verschiedenen epidemiologischen und hygienischen Fragen beachtet werden, besonders mit Rücksicht auf den Aufenthalt zahlreicher Vogelarten in der Nähe des Menschen, seiner Wohnung und menschlicher Abfallstoffe. Die Schwierigkeit, die Abfallstoffe vor den Vögeln zu schützen, und ihre Fähigkeit, große Strecken zu durchfliegen, erhöht die Bedeutung der kranken Vögel als Träger und Verbreiter von Paratyphus- und Typhusinfektionen.

Nachtrag. Nach Beendigung dieser Arbeit hat einer von uns (B. Ebert) folgenden Ergänzungsversuch angestellt: 4 Meerschweinchen wurden mit steigenden Dosen ($^1/_{10}$, $^1/_5$ und $^1/_2$ Oese) von Agarkulturen der Stämme Nr. 39, 42, 48 und 49 ip. immunisiert; 10 Tage darauf wurden ihre Blutsera, die durch Herzpunktion gewonnen wurden, auf agglutinierende und komplementbindende Eigenschaften untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in den Tab. Nr. 11 und 12 dargestellt.

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, ergab sich auch bei dieser Untersuchung die Identität all der oben erwähnten Kulturen mit dem B. typhi abdom.

Außerdem wurde ein Infektionsversuch an zwei Hähnen mit dem Stamm 39 gemacht, es wurden je 6 Oesen einer lebenden 24stünd.

Tabelle 11.

Das angewandte Serum	Stamm 39 Serum		Stamm 42 Serum		Stamm 48 Serum		Stamm 49 Serum		Typh. Serum
geprüft am Stamm	St. 39	B. typhi	St. 42	B. typhi	St. 48	B. typhi	St. 49	B. typhi	B. typhi
1: 200	++	++	+	++	—	+	++	++	++
1: 400	++	++	+	++	—	+	++	++	++
1: 800	++	++	+	++	—	—	++	+	++
1:1600	—	++	+	++	—	—	++	+	++
1:3200	—	+	—	—	—	—	++	—	++
1:6400	—	+	—	—	—	—	+	—	++

Diese Tabelle enthält die Ergebnisse der Agglutination mit den Sera der Meerschweinchen, die mit verschiedenen Vogeltyphusstämmen immunisiert wurden. Agglutiniert wurden homologe Stämme und B. typhi abd.

Tabelle 12.

Sera	Antigene							
	Bakterienkulturen, die als Antigene dienten							
	Die den Seren homologen Stämme				B. typhi abdominalis (Kral.)			
Stamm 39 Serum	4	4	3	—	4	4	4	—
Typhus-Serum	4	4	3	—	4	4	3	—
Stamm 42 Serum	4	4	4	3	4	4	3	2
Typhus-Serum	4	4	4	3	—	—	—	—
Stamm 48 Serum	4	4	3	—	4	4	3	—
Typhus-Serum	4	4	4	—	—	—	—	—
Stamm 49 Serum	4	4	4	1	4	4	1	—
Typhus-Serum	4	4	1	—	—	—	—	—

Diese Tabelle enthält die Resultate, welche wir bei der Anwendung der Komplementbindungsreaktion erhalten haben.

Agarkultur mit negativem Erfolg in den Brustmuskel injiziert. Es erwies sich somit diese Kultur als apathogen für Vögel, doch spricht dieser Umstand keinesfalls gegen die Identität des Stammes 39 mit dem

Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

B. typhi abdom. und gegen seine ätiologische Bedeutung. Wahrscheinlich haben diese Bakterien, die seinerzeit die Ursache der septischen Erkrankung des Vogels waren und aus diesem Grunde bei parenteraler Einführung stark pathogen hätten wirken müssen, durch lange Aufbewahrung ihre Virulenz eingebüßt. Der Verlust der Virulenz eines Mikroorganismus ist indes kein Hindernis, wie auch Kolle mit Recht betont, die entsprechenden Bakterien zu der einen oder anderen Art zu rechnen (Kolle u. Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. I. S. 807). Infolgedessen behaupten wir, daß der negative Erfolg des Infektionsversuches bei Vögeln nicht gegen unsere vorhergehenden Schlußfolgerungen spricht.

Literaturverzeichnis.

Tartakowsky, M., Ueber eine Infektionskrankheit der Kreuzschnäbel und der anderen Zimmer- und Singvögel. (Mitteil. in d. biolog. Sekt. d. Gesellschaft z. Schutze der Volksgesundh. 12. April 1898. [Russisch].) — Pfeiler u. Roepke. II. Mitteil. über das Auftreten des Hühnertyphus und die Eigenschaften seines Erregers (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 125.) — Twert, Die Vergärung von Glykosiden durch Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe und der Erwerbung neuer Vergärungsfähigkeiten seitens des Bac. dysenteriae und anderer Mikroorganismen. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1907. S. 508.) — Pecham, The influence of environment upon teleological processus of the various members of the colon group of Bacilli. (Journ. exper. Med. Vol. 2. 1897. p. 549.) — Nieter, Zur Metatyphus-Frage. (Münch. med. Wochenschr. 1908. Nr. 42. S. 898.) — Mandelbaum, Veränderungen zweier Nährböden Rosolsäure und Blutagar durch Säure- bzw. alkalibildende Bakterien. (Ebenda. 1909. S. 2475.) — Bachem, Selter u. Finkler, Die von Zülpich im Sommer 1909 ausgehende Epidemie von Lungenerkrankungen und der heutige Stand der Psittacosefrage. (Klin. Jahrb. Bd. 23. 1910. S. 539.) — Durham, On an epidemy of gastroenteritis associated with the presence of a variety of the Bac. enteritidis Gärtner. (Brit. med. Journ. Nr. 1966. 1898. p. 600.) — Saquepée, Sur les salmonelloses: les sensibilisatrices. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 63. 1907. p. 421.) — Kern, Dtsch. Ztschr. f. Tiermed. Bd. 22. 1896. S. 171. Zit. nach Pfaff. — Rieck, ebenda. Bd. 15. 1899. — Drews, Zur Aetiologie des PB. (Ztschr. f. Med.-Beamte. Bd. 43. 1908. S. 183.) — Gibrut, Diseases of canary. (Vet. Journ. 1910. p. 655.) — Pfeiler, Ueber ein seuchenhaftes, durch Bakt. aus der Parat.-Gruppe verursachtes Kanariensterben. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1911. S. 953.) — Adam u. Meder, Ueber Parat. B-Infekt. bei Kanarienvögeln. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912.) — Weidleich, Beitrag zum Ferkeltyphus. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. Bd. 30. 1914. S. 73. — Smith u. Broeck, Agglutination affinities of a pathog. bacillus from fowls (fowlstyphoid) with the typhoid bacillus of man. (Journ. Med. Res. Vol. 31. 1915. p. 503.) — Gaffky, Zur Aetiologie des Abdominaltyphus. (Mitt. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 2. 1884; zit. nach Chantemesse u. Widal.) — Sirotinin, Die Uebertragung von Typhusbazillen auf Versuchstiere. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. S. 465.) — Beumer u. Pfeiffer, Bakteriologische Studien über die ätiologische Bedeutung des Typhusbaz. (Ebenda. Bd. 2. 1887. S. 110.) — Baumgarten, Ueber Infektionsversuche mit Typhusbazillen. (Centralbl. f. klin. Med. 1887. Nr. 4. S. 57.) — Fraenkel u. Simmonds, Zur Aetiologie des Abdominaltyphus. (Ebenda. 1885. Nr. 6. S. 757.) — Fraenkel, Zur Lehre von den pathogenen Eigenschaften der Typhusbazillen. (Ebenda. 1886. Nr. 10. S. 169.) — Chantemesse et Widal, Recherches sur le bacille typhique. (Arch. de physiol. norm. et pathol. T. 9. 1887. p. 217.) — Gilbert et Girode, Fièvre typhoide expérimentale. (Gaz. méd. de Paris. 1891. p. 241.) — Sanarelli, Etudes sur la fièvre typhoide expér. (Ann. Pasteur T. 6. 1892. p. 721.) — Scordo, Ueber die exper. Infektion der Ziege mit dem Eberthschen Bazillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1910. S. 290.) — Levy u. Jacobsthal, Fleischvergiftung und Typhus. (Arch. f. Hyg. Bd. 44. 1902. S. 113.) — Pfaff, Eine infektiöse Erkrankung der Kanarienvögel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. S. 275.) — Ebert, B., Ueber das Verhältnis der Bouillon- und Eiweißrasse des Bazillus des Zieselmaustyphus (B. typhi spermophilorum) Mereschkowsky, zu einigen Bakterien der Coli-Gruppe. (Arb. d. Landwirtsch. Labor. Bd. 5. 1914. S. 3.) [Russ.] — Ders., Ueber die systematische Stellung des Bac. Mereschkowsky und Danysz unter den Bakterien der Coli-Typhus-Gruppe. (Diss. Petersburg. 1908.) [Russisch.]

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die antiseptischen Eigenschaften der Acridinverbindung des Flavins im Licht und Dunkeln.

Von **J. Steph. van der Lingen** in Kapstadt.

Es ist wohlbekannt, daß die Acridinverbindung des Flavins in hohem Maße fluoresziert; die Farbe des Fluoreszenzlichtes ist grünlich-gelb.

Das Absorptionsspektrum der Verbindung reicht von der Gegend des Ultravioletts bis zum sichtbaren Rot. Die Fluoreszenz kann durch sichtbares Licht erregt werden, das keine pathologische Wirkung auf das lebende Gewebe hat, und dessen Strahlen durchdringender sind als die violetten oder ultravioletten. Die Verbindung kann daher nach subkutaner Einspritzung unter der Haut fluoreszent gemacht werden, vorausgesetzt, daß ihre Fluoreszenz nicht durch Körperflüssigkeiten zerstört wird. Mit einer Untersuchung hierüber bin ich beschäftigt.

Um die Giftigkeit der Verbindung im Lichte und im Dunkeln festzustellen, wurden Lösungen von $^1/_{1000}$ bis zu $^1/_{128000}$ abwärts benutzt. 2 Probierröhrchen wurden mit gleichen Mengen jeder Lösung gefüllt und dann mit $^1/_{10}$ ccm von Staphylococcus aur. oder B. pyocyan. geimpft, so daß etwa 1 000 000 Organismen auf 1 ccm Flavin entfielen.

Ein Satz Probierröhrchen wurde dem gleichmäßigen Lichte einer Wolframlampe ausgesetzt, ein zweiter Satz wurde in einer Dunkelkammer aufbewahrt; beide Sätze wurden auf der Temp. von 37° C gehalten. Nach 1, 2 usw. Std. wurden Kulturen auf Agar hergestellt, die im Dunkeln in demselben Brutofen untergebracht wurden.

Die Resultate zeigen deutlich, daß dies Antiseptikum im Lichte wirksamer ist als im Dunkeln. Die Kontrollkulturen, welche mit reinem Wasser im Lichtfelde angesetzt waren, wuchsen durchaus gut auf dem Agarnährboden.

Die Resultate zeigen ferner, daß die Differenzierung zwischen dunkel und hell mit der Verdünnung zunimmt, wahrscheinlich weil die Fluoreszenz sich tiefer in die Röhre ausbreitet. Die abtötende Wirkung wird vergrößert, wenn die Röhrchen von Zeit zu Zeit geschüttelt werden. Dies dürfte auf die Gegenwart von Sauerstoff zurückzuführen sein, weniger darauf, daß die Organismen im Fluoreszenzfelde geschüttelt werden. Daraus folgt, daß die abtötende Wirkung der Fluoreszenz auf Organismen durch Gegenwart von Sauerstoff erhöht wird.

Ferner wurde gefunden, daß Lösungen von $^1/_{2000}$ und $^1/_{3000}$ nicht so wirksam waren wie Lösungen von $^1/_{4000}$ oder $^1/_{5000}$.

In diesem Falle neige ich zu der Ansicht, daß die Ionisation der Lösung einen entscheidenden Einfluß auf ihre Giftigkeit hat.

Daß die Wirkung sicher nicht allein auf das Licht zurückzuführen ist, geht klar nicht nur aus den Kontrollversuchen hervor, sondern auch aus der Tatsache, daß beide untersuchten Organismen ganz gut in dem Spektralteile wuchsen, welcher dem Fluoreszenzspektrum des Flavins entspricht.

Die Versuche zeigen, daß Flavin als Antiseptikum wirksamer ist, wenn es durch eine gewöhnliche Wolframlampe beleuchtet ist, als wenn es im Dunkeln bereitet und benutzt wird.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Einwirkung von Kochsalzlösung auf Bakterien.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie „Emil von Behring", Marburg. (Leiter: Prof. Dold.)]

Von Priv.-Doz. Dr. **Hans Schmidt**, Abteilungsleiter.

In einer Reihe von Arbeiten [1]) über die Einwirkung von Na-Chlorid auf verschiedene Mikroben hat A. Duthoit festgestellt, daß Aufschwemmungen gewisser Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung bereits nach 7 Std. steril sind, daß aber ein Zusatz von $CaCl_2$ (0,04 Proz.) die Lebensfähigkeit je nach Art der Bakterien bis zu 2 Tagen verlängert. Nimmt man Ringersche Lösung als Aufschwemmungsmittel, dann bleiben die Bakterien eine beträchtlich längere Zeit lebend. Duthoit gab in 5 ccm einer 0,9-proz. NaCl-Lösung 5—20 Millionen lebende Bakterien und fand, daß gegenüber der NaCl-Lösung Staphylococcus aureus am widerstandsfähigsten ist, dann folgen Typhus-, Paratyphus A- und B-, Coli- und Pneumobazillen.

Bestehen diese Angaben zu Recht, dann hätte man für zahlreiche Vakzine ein einfaches Mittel, sie steril zu machen.

Ein Stehenlassen in NaCl-Lösung über 24 Std. bei Zimmertemperatur dürfte genügen, da ja nach Duthoit die meisten Keime im Mittel innerhalb der ersten 6 Stunden sterben sollen. Dieses Verfahren hätte neben seiner Einfachheit den großen Vorteil, die Abtötung durch Erhitzen zu vermeiden, die stets mit einer Zustandsänderung des Bakterienprotoplasmas einhergeht, die die antigene Wirkung beeinträchtigt. Ferner wäre der Zusatz eines Antiseptikums entbehrlich. Zwar besitzen wir im Yatren ein Mittel [2]) ein Mittel, Bakterien schonend und sicher abzutöten, das dazu noch durch seine unspezifische Wirkung auf den Reizzustand der Zellen dem Vakzin eine potenzierte Wirkung gibt. Aber es bleiben Fälle übrig, wo es wünschenswert ist, ein Vakzin ohne irgendwelche Zutaten zu geben. Nun ist es klar, daß jedes Bakterium, das nicht Dauerformen, d. h. Sporen, bilden kann, auf die Dauer abstirbt, wenn es in einem Milieu ist, dessen Mangel an Nährmaterial eine Vermehrung verhindert. Diese Tatsache mag teilweise den Feststellungen von Duthoit zugrunde liegen, teilweise mag auch eine unmittelbar schädigende Wirkung der NaCl-Lösung vorliegen, wie sie schon seit langem für Bakterien bekannt ist.

Ich habe daher mit besonderer Berücksichtigung der praktischen Bedeutung für die Vakzinsterilisierung untersucht, wie schnell eingebrachte Keime in einer NaCl-Lösung abgetötet sind, zugleich wurde auch der Einfluß geringer Zusätze von $CaCl_2$, sowie Hypotonie untersucht und die Wirkung der 0,9-proz. NaCl-Lösung mit der der Ringer-Lösung verglichen.

Die Versuchsanordnung war folgende:

---

1) Compt. rend. Soc. Biol., T. 89, 1923, p. 548, 550, 553.

2) Yatren ist ein von den Behringwerken, Marburg, hergestelltes Präparat. Es ist das Na-Salz der Jodverbindung der o.oxy-chinolinsulfosäure.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Von den zur Aufschwemmung der Bakterien dienenden Lösungen wurden je 300 ccm in einer Flasche sterilisiert und für die Dauer des Versuches vorrätig gehalten, um so stets gleiche Bedingungen zu gewährleisten. Die Bakterien wurden auf festen Nährböden (Agar, Ascitesagar, Löffler-Serum) gezüchtet und 12-stündige Kulturen benutzt. Mit 1 mm-Oese — die gleiche Oese wurde für den ganzen Versuch benutzt — wurde eine Oese vorsichtig, um keine Spur Nährböden mitzunehmen, der Kultur entnommen und in je 5 ccm der betreffenden Salzlösung verteilt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Von dieser Aufschwemmung wurde in bestimmten Zeitabständen (3, 5, 7, 10, 24 Std., 2, 3, 5, 10 Tg.) zwei große (4 mm) Oesen (gleiche Oese für den ganzen Versuch) in Bouillon übertragen, die dem jeweiligen Bakterium optimal angepaßt war. Die Bouillon wurde bei 37° bebrütet und die definitive Ablesung nach 4 Tagen vorgenommen. Als Kontrolle wurden auch von den unbeimpften Salzlösungen, sowie von den verschiedenen Bouillonnährböden Sterilitätsproben gemacht, die sämtlich steril blieben. Durch diese Versuchsanordnung war möglichst Sorge getragen, daß etwa überlebende Keime mit Sicherheit nachgewiesen werden konnten.

Das Ergebnis der Versuche ist in folgender Tabelle zusammengestellt, aus der auch die Art der geprüften Keime, sowie die verwendeten Salzlösungen ersichtlich sind.

	Aqua dest.	Proz. NaCl-Lösung				0,9 Proz. NaCl		
		0,3	0,6	0,9	1,5	0,02 Proz. $CaCl_2$	0,1 Proz. $CaCl_2$	Ringer
Staphylococcus aur.	—	—	—	—	+ 3	—	—	+ 7
„ alb.	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptococcus	+ 2	+ 1	+ 6	+ 3	+ 1	+ 2	+ 2	+ 2 h
Pneumococcus	+ 3	+ 1/2 h	+ 1/2 h	+ 6	+ 7	+ 2	+ 2	—
Gonococcus	+ 1	+ 1	+ 1	+ 1	+ 1	+ 1	+ 2	+ 1
Meningococcus	+ 4	+ 1	+ 2	+ 2	+ 4	+ 2	+ 3	+ 8
Diphtherie	+ 1	+ 1/2 h	+ 2	+ 2	+ 1	+ 1	+ 3	+ 2
Flexner	—	—	—	—	+ 10	—	—	—
Shiga	—	—	—	—	+ 10	—	—	—
Y, Typhus, Paratyphus A, „ B, Coli	—	—	—	—	—	—	—	—

— = nach 10 Tagen waren noch lebende Keime nachweisbar.

\+ = Kultur war steril; die Zahlen bedeuten, nach wieviel Tagen (Stunden sind mit h bezeichnet) nach Beimpfung der Salzlösung die nachfolgende Kultur steril war.

Obwohl von den meisten Keimen mehrere Stämme untersucht wurden, sind natürlich die vorliegenden Ergebnisse nicht ausreichend, der großen individuellen Verschiedenheit der Bakterien Rechnung zu tragen, doch gestatten die Beobachtungen immerhin einige Schlüsse zu ziehen.

Zunächst zeigte innerhalb der Grenzen des Versuches die Hypotonie keinen Einfluß auf eine etwaige Verkürzung der Lebensdauer der Bakterien. Im Gegenteil schien die 0,3-proz. NaCl-Lösung für Gono-, Pneumo-, Streptokokken und Diphtheriebazillen schädlicher zu sein als Aqua dest. Auch der Einfluß der schwachen Hypertonie war so gering, daß seine Wirkung noch in die Breite der Variabilität der einzelnen Stämme fallen dürfte. Das gleiche gilt auch für den Zusatz geringer Mengen $CaCl_2$. Einen die Lebensdauer verlängernden Einfluß der Ringerschen Lösung im Vergleich mit der 0,9-proz. NaCl-Lösung kam nur bei Pneumo- und Meningokokken zum Ausdruck.

Legt man eine Einwirkung von 24 Std. der Beurteilung zugrunde, ob nach dieser Zeit eine Vakzine steril ist, dann könnte dies nur für Gonokokken in Frage kommen, deren Empfindlichkeit äußeren Einflüssen

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegenüber ja hinlänglich bekannt ist. Aber bereits die Meningokokken und Diphtheriebazillen bedurften eines mehrtägigen Aufenthaltes in reiner Salzlösung, um vollständig abgetötet zu sein. Dagegen waren Staphylokokken und alle geprüften Bakterien der Typhus-Ruhr-Coli-Gruppe noch nach 10 Tagen vermehrungsfähig.

Nach diesem Ergebnis kann man also nicht wagen, eine Bakterienaufschwemmung in NaCl-Lösung, mit Ausnahme der Gonokokken, zur Sterilisierung einige Tage sich selbst zu überlassen zwecks Herstellung eines Vakzins.

Zusammenfassung.

Die von Duthoit gemachten Angaben über die Fähigkeit gewöhnlicher physiologischer NaCl-Lösung, innerhalb 7 Stunden die meisten Bakterien abzutöten, erwiesen sich als unhaltbar.

Nachtrag. Ficker (Zeitschr. f. Hyg. 29. I.) hat bereits gezeigt, daß die meisten Spaltpilze in reinstem destillierten Wasser rasch, in ca. 1 Std. absterben, aber daß die kleinsten Spuren Nährmaterial, das mit den Keimen übertragen wird, die Lebensdauer beträchtlich verlängert. Das gleiche gilt für dichte Aufschwemmungen, in denen die große Menge der absterbenden Individuen bis zu einem gewissen Grade den Ueberlebenden als Nahrungsquelle dient.

Bei Gonokokken hat kürzlich P. Engering (Zeitschr. f. Hyg. 1923. p. 100. 314) nachgewiesen, daß es resistente Stämme gibt, die sogar im Wasser einer städtischen Badeanstalt erst nach 14 Std. abstarben.

Nachdruck verboten.

Tuberkulinreaktion und C-Vitamin.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (stellv. Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von Dr. **Friedrich Schilf**, Assistenten am Institut.

Mit 4 Kurven im Text und 1 Tafel.

Die Bedeutung der Vitamine liegt in der Rolle, die ihnen für die Funktion der Körperzellen zukommt. Sie sind notwendige Nahrungsbestandteile für den gesunden Organismus und gewinnen bei drohenden Erkrankungen vermehrt an Unentbehrlichkeit, da sie über deren Beginn, Verlauf und Ausgang entscheidend sein können. Bekannt ist der schwere Verlauf von Krankheiten bei unzureichender Ernährung, wie wir ihn besonders während der letzten Jahre erlebt haben. Daß dabei die Vitamine eine Rolle spielen, gewinnt nach neueren Forschungen mehr und mehr an Wahrscheinlichkeit. Die drei bekannten Vitamine A, B, C, von denen man neuerdings noch ein 4. Vitamin D unterscheidet, verursachen bei Mangel in der Nahrung jeweils bestimmte Krankheitssymptome. Doch ist es bis heute nur bei einzelnen Krankheiten mit Sicherheit gelungen, sie auf das Fehlen eines bestimmten Vitamins zurückzuführen. Das ist der Skorbut, der bei Mangel an antiskorbutischem oder C-Vitamin in der Nahrung entsteht, und die Beri-Beri-

Digitized by Google | Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Krankheit, die auf Fehlen von antineuritischem oder B-Vitamin zurückzuführen ist. Daß ungenügende Zufuhr von Vitamin A bei der Entstehung der Rachitis eine wichtige Rolle spielt, ist wohl zweifellos, nur gehen die Ansichten über seine ausschließliche Bedeutung auseinander. Viel häufiger wird es jedoch der Fall sein, daß zu gleicher Zeit ungenügende Zufuhr an mehreren dieser Vitamine stattfindet, so daß dann die Krankheitssymptome ganz verschieden sein können.

Eine Frage nun hat besonderes Interesse erweckt. Wie ändert sich die Infektionsbereitschaft des Körpers bei Vitaminmangel, beziehungsweise wie verhalten sich dann seine Abwehrkräfte? Es ist bekannt, daß Kinder mit Nährschäden besonders stark durch Infektionen gefährdet sind. In solchen Fällen wird der Zusammenbruch des mangelhaft, und sicher auch in bezug auf seinen Vitaminbedarf falsch ernährten Organismus durch eine hinzutretende Infektion herbeigeführt. Stolte (2) erklärt diesen Vorgang so, daß der bereits verminderte Gehalt des Organismus an Vitaminen, die ja nur in geringer Menge im Körper gespeichert werden können, durch die Infektion in vermehrtem Maße verbraucht wird. Auch die Empfänglichkeit für Diphtherie und Tuberkulose soll durch Vitaminmangel der Nahrung erhöht sein. So ist es jedenfalls bemerkenswert, daß diese Krankheiten sich häufig an einen Skorbut anschließen, wie Stepp (3) mitteilt. Abderhalden (4) hat an vitaminfrei ernährten Tauben eine verminderte Resistenz gegenüber der Diphtherieinfektion festgestellt. Besonders ausländische Forscher (5, 6, 7, 8) haben sich experimentell mit der Frage der Resistenzverminderung bei Vitaminmangel beschäftigt. Sie fanden sie bei Ratten, Kaninchen und Tauben gegenüber Milzbrand, Pneumo-, Meningokokken und Schweinerotlauf. Gleiche Ergebnisse hatten andere ausländische Forscher (9) bei Hunden und Tauben. Umgekehrt konnten Nassau und Scherzer (18) an Meerschweinchen zeigen, daß eine Infektion bei gleichzeitiger vitaminfreier Kost den Verlauf des Skorbut beschleunigt. Von Interesse im Hinblick auf die vorliegenden Versuche sind die Feststellungen Renons (10), nach denen eine Resistenzverminderung gegenüber der Tuberkulose bei vitaminarmer Fütterung eintritt. Auch Mutha (11) glaubt an die Bedeutung der Vitamine bei der Tuberkulose. Leider waren mir die Originalarbeiten beider nicht zugänglich, so daß ich nicht feststellen konnte, wie diese Forscher zu ihren Ergebnissen gelangt sind.

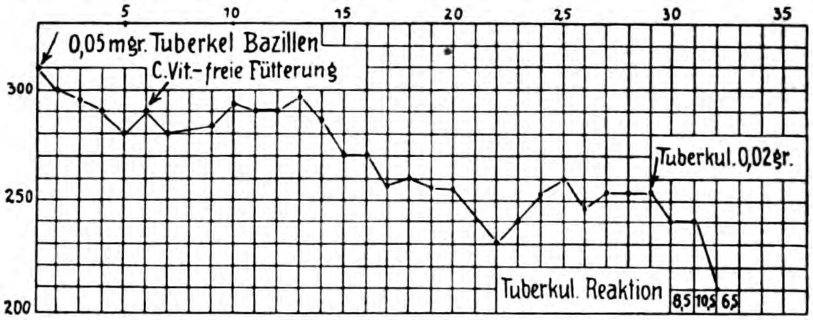
Die Frage, in welcher Weise die Widerstandskraft des Körpers verändert wird, ist mehrfach untersucht worden. Man hat den Gehalt des Blutes an verschiedenen Antikörpern festgestellt, wie Agglutininen, Präzipitinen, Hämolysinen, Bakteriolysinen (12, 13, 14, 15), sowie von Opsoninen, bzw. Tropinen (16). Die teilweise sich widersprechenden Ergebnisse dieser Versuche lassen sich dahin zusammenfassen, daß bei Vitaminmangel die Bildung von Agglutininen, Präzipitinen, Hämolysinen und Bakteriolysinen kaum, die der Opsonine unwesentlich vermindert ist.

Welcher Art die Abwehrkräfte bei der Tuberkulose sind, steht heute noch nicht eindeutig fest. Trotzdem dürfte es von Interesse sein, zu erfahren, wie sich der Körper bei dieser Krankheit im vitaminarmen Zustande verhält. Als Maßstab für die Stärke der Abwehrkräfte beim Menschen dient uns die Tuberkulinreaktion. Auf Anregung von Herrn Prof. Prausnitz habe ich diese Frage mit der Tuberkulinreaktion an tuberkulösen Meerschweinchen geprüft. Es wurden zu diesem Zwecke Meerschweinchen im Gewicht von 250—350 g bei einer Kost bestehend aus Hafer, Kleie, Wasser und Milch, die 1 Std. im strömenden Dampf

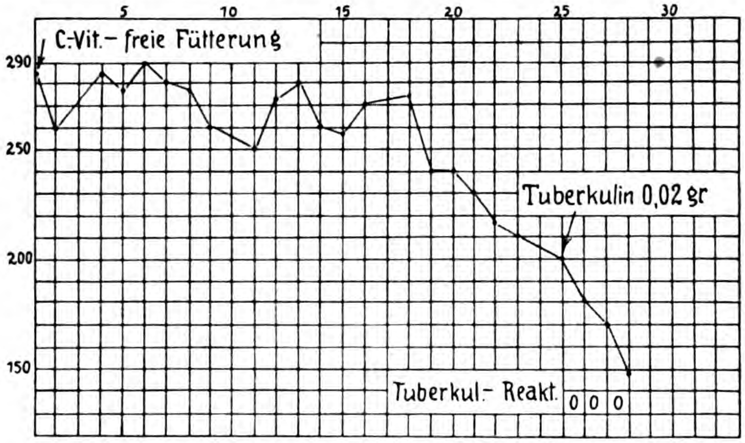
Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

erhitzt worden war, C-vitaminfrei ernährt. Nach etwa 3 Wochen zeigten sich manifeste Symptome des Skorbut. Die Tiere ließen verminderte Freßlust erkennen, die bei einzelnen schon sehr frühzeitig einsetzte. Der körperliche Befund entsprach dem von Holst und Fröhlich[1]) angegebenen, so daß sich hier eine eingehende Schilderung erübrigt.

Die wichtigsten Erscheinungen am lebenden Tiere waren: livide Verfärbung des Zahnfleisches, Blutungen in die Zahnfleischränder des Unterkiefers, Lockerung der Backenzähne, Durchfälle, zuweilen mit Blutstreifen; an den Extremitäten, besonders den Hinterbeinen, eigenartig starke Pronation, die an die Stellung der Vorderbeine des Maulwurfs erinnert (offenbar bedingt durch schmerzhafte Muskelblutungen). Bei der Sektion fanden sich zahlreiche mehr oder weniger ausgedehnte



Kurve 1. Nr. 81. Skorbutig-tuberkulös.



Kurve 2. Nr. 90. Skorbutig, nicht tuberkulös.

Blutungen in die Weichteile und das Periost der langen Röhrenknochen, besonders in der Kniegegend, Verbreiterung der Knorpelknochengrenzen der Rippen mit subperiostalen Blutungen, Epiphysenlösungen, Darm-, zuweilen Blasenblutungen. Selten sah ich Oedeme und subkutane Blutungen. Häufig fand sich auch geringe Vergrößerung der Milz und Nebennieren, sowie Schwellung der mesenterialen Lymphdrüsen. Besonders erwähnen möchte ich noch das stärker rote Durchscheinen der Zehennägel bei den meisten skorbutigen Tieren als bei den normalen. Die Figg. 1—4 geben einige charakteristische Symptome wieder, wie man sie an meinen Versuchstieren beobachten konnte. Der histologische

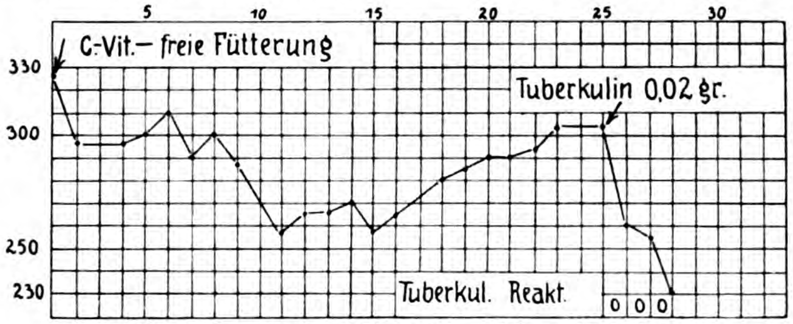
1) Funk, Die Vitamine.

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

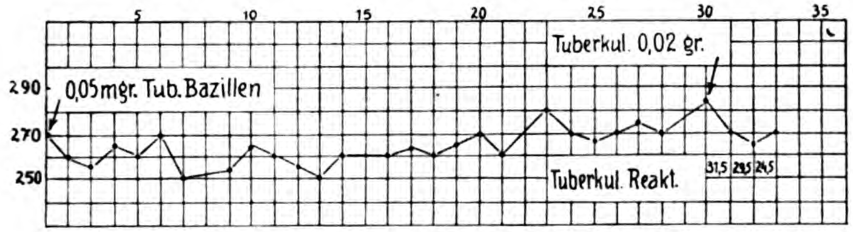
Befund und der Befund des Blutbildes sollen hier nicht weiter besprochen werden.

Ein Teil der so vorbehandelten Tiere war nun entweder kurze Zeit vorher oder gleichzeitig mit Beginn der C-vitaminfreien Fütterung durch intraperitoneale Impfung mit 0,05 mg Tuberkelbazillen vom Typus humanus tuberkulös gemacht worden, so daß bis zum Ausbruch des Skorbut eine voll entwickelte Tuberkuloseerkrankung zu erwarten war. An allen Tieren wurde dann nach Auftreten der ersten Skorbuterscheinungen die intrakutane Tuberkulinreaktion mit 0,02 g Alttuberkulin nach Römer angestellt.

Den Ablauf der Reaktion sollen einige Beispiele erläutern. Kurve 1 gibt den Gewichtsverlauf eines skorbutig ernährten tuberkuloseinfizierten Meerschweinchens von Beginn des Versuches, d. h. der tuberkulösen Infektion an wieder. Ungefähr 1 Woche danach begann die Skorbutfütterung. Man sieht, wie das Gewicht nach einem anfänglichen Abfall zunächst einigermaßen konstant bleibt, nach 1-wöch. Einwirkung der Fütterung aber allmählich abfällt. Dann beginnt es nach einiger Zeit wieder leicht anzusteigen. Am 30. Tage, d. h. also 24 Tage nach Beginn der C-vitaminfreien Ernährung, sind deutlich skorbutige Erscheinungen vorhanden, und das Tier wird mit Tuberkulin intrakutan geimpft. Das Gewicht, das schon vorher wieder begann abzunehmen, fällt jetzt stark, und an der Stelle der Impfung tritt ein Reaktionsherd auf, dessen Größe nach 24 Std. 8,5 mm, nach 48 Std. 10,5 mm und nach weiteren 24 Std. 6,5 mm im Durchmesser beträgt. Zum Vergleich den Gewichtsverlauf bei 2 skorbutigernährten nichtinfizierten Kontrolltieren: Bei dem Tiere auf Kurve 2 nimmt das Ge-



Kurve 3. Nr. 88. Skorbutig, nicht tuberkulös.



Kurve 4. Nr. 82. Normal ernährt, tuberkulös.

wicht auch allmählich unter dem Einflusse der Ernährung ab, auch hier der starke Gewichtsabfall von einem bestimmten Zeitpunkte der Fütterung an; die Tuberkulinreaktion fällt, wie zu erwarten war, vollkommen negativ aus. Das Gleiche ist bei dem 2. Tiere auf Kurve 3 der Fall, das ebenfalls C-vitaminfrei ernährt wurde und nicht tuberkuloseinfiziert war. Die Kurve dieses Tieres zeigt einen bei skorbutigernährten, sonst nicht kranken Meerschweinchen häufiger auftretenden Verlauf insofern, als es der Körper des Tieres nach einiger Zeit lernt, sich auf die veränderte mangelhafte Ernährung notdürftig umzustellen und noch den bisherigen Verlust teilweise zu ergänzen. Ob der weitere plötzliche Gewichtsabfall direkt durch die Tuberkulinimpfung verursacht ist, oder ob nur die bereits bestehende Freßunlust verstärkt worden und dadurch die Gewichtsverminderung verursacht worden ist, bleibe dahingestellt. Jedenfalls zeigt auch dieses Tier keine kutane Reaktion.

Auf Kurve 4 ist nun der Gewichtsverlauf bei einem normal ernährten tuberkuloseinfizierten Tiere wiedergegeben. Das Gewicht bewegt sich nach der Infektion ziemlich

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

gleichmäßig, geht zum Teil sogar über das Anfangsgewicht hinaus. Was hier aber vor allem interessiert, ist der Ausfall der Tuberkulinreaktion. Während bei dem skorbut- und tuberkulosekranken Tiere der Reaktionsherd in der größten Ausdehnung 10,5 mm betrug, haben wir hier einen Bezirk von 20—30 mm Durchmesser. Wir sehen eine typische kräftige Reaktion.

In dieser Weise verlief nun die Reaktion in allen Versuchsreihen. Tab. I gibt eine Uebersicht über einen kleinen Vorversuch mit 2 skorbutig tuberkulösen und 2 normal ernährten tuberkulösen Tieren. Sie zeigt den Verlauf der lokalen Hauterscheinungen an den beiden auf die Tuberkulininjektion folgenden Tagen. Man sieht bei den normal er-

Tabelle I.

Mittlerer Durchmesser der Tuberkulinkutanreaktion.

Meerschweinchen Nr.	nach 24 Std.	nach 48 Std.
Skorbutig und tuberkulös		
32	10,5 mm	0
35	8,5 „	0
Normal ernährt, tuberkulös.		
37	19 mm	18,5 mm
38	16 „	15 „

nährten tuberkulösen Tieren eine deutlich positive Kutanreaktion, die nach 48 Std. beginnt abzuklingen. Bei den skorbutigen Tieren dagegen zeigt sich nur ein schwaches Aufleuchten einer Reaktion, die am 2. Tage wieder verschwunden ist. Das ist jedenfalls ein bemerkenswertes Resultat, und es bestärkte die Annahme, daß bei den skorbutigen Tieren die Reaktionsfähigkeit auf den Tuberkulinreiz herabgesetzt ist.

Die weiteren Versuche ergaben dann auch durchaus die Berechtigung dieser Vermutung. Die Tab. II gibt ziffernmäßig das Protokoll einer ganzen Versuchsreihe wieder. A) Bei 3 skorbutkranken tuberkulose-

Tabelle II.

Tuberkulinkutanreaktion.

Meerschweinchen Nr.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	Temperaturreaktion
A) Skorbutig und tuberkulös			
76	+++	+++	— 0,1
81	++	+	— 0,6
87	+	—	— 1,4
			mittel: — 0,7
B) Normal ernährt, tuberkulös			
82	++++	++++	+ 0,8
83	+++	+++	+ 0,3
84	++++	++++	+ 1,4
85	++++	++++	+ 0,4
			mittel: + 0,7
C) Skorbutig, nicht infiziert			
88	—	—	— 0,5
89	—	—	— 0,8
90	—	—	— 1,6
91	±	—	— 1,1
			mittel: — 1,0
D) Normal ernährt, nicht infiziert			
105	±	—	— 0,4
106	—	—	+ 0,2
107	±	—	+ 0,4
108	+	—	+ 0,6
			mittel: + 0,2

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Bezeichnung der Kutanreaktionen:

++++	Papel über	28	mm	Durchmesser,	deutliche Area
+++	„	19—26	„	„	, „ „
++	„	8—10	„	„	, keine Area
+	„	3	„	„	, „ „

infizierten Tieren zeigte sich eine in der Stärke verschiedene Kutanreaktion, die bei 2 Tieren nach 48 Std. kleiner oder null war, bei dem 3. (Nr. 76), das von vornherein mittelstark reagiert hatte, blieb sie auch am 2. Tage gleich stark. Es ist bemerkenswert, daß die Sektion bei diesem Tiere nur sehr geringe Erscheinungen von Skorbut ergab. B) Demgegenüber ließen die normal ernährten tuberkulosekranken Tiere in allen Fällen starke Reaktionen erkennen. Zu beachten ist bei diesen Tieren auch gleichzeitig die Temperaturdifferenz, worauf noch näher eingegangen werden soll. In dem zweiten Teile der Tabelle sind die zugehörigen Kontrollen verzeichnet, die erste Gruppe C) skorbutkranke nichtinfizierte Tiere, die zweite D) normalernährte nichtinfizierte Tiere. Bei allen fand sich entweder keine oder eine ganz unbedeutende Reaktion.

Zur Uebersicht ist das Ergebnis dieser Versuchsreihe in Tab. III zusammengefaßt. Es zeigt sich also bei 3 skorbutkranken tuberkulösen Tieren nach 24 Std. 1mal eine schwache Reaktion, 1mal eine mittlere und 1mal eine starke Reaktion. Bei 4 normal ernährten tuberkulösen 4mal starke Reaktionen. Von 4 skorbutigen nichttuberkulösen Vergleichstieren zeigen 3 keine, 1 eine schwache Reaktion, von 4 ganz normalen 1 keine, 3 schwache Reaktionen. Nach 48 Std. haben sich in allen Gruppen die Erscheinungen im Sinne einer Verminderung verschoben mit Ausnahme der normal ernährten tuberkulösen Tiere.

Tabelle III.

Tuberkulinkutanreaktion.

Behandlung	Zahl d. Versuchstiere	negativ od. schwach	mittel	stark
		Nach 24 Stunden		
Skorbutig, tuberkulös	3	1	1	1
Normal ernährt, tuberkulös	4	—	—	4
Skorbutig, nicht infiziert	4	4	—	—
Normal ernährt, nicht infiziert	4	4	—	—
		Nach 48 Stunden		
Skorbutig, tuberkulös	3	2	—	1
Normal ernährt, tuberkulös	4	—	—	4
Skorbutig, nicht infiziert	4	4	—	—
Normal ernährt, nicht infiziert	4	4	—	—

Wir sehen also, daß durch die C-vitaminfreie Fütterung die Reaktionsfähigkeit auf die Tuberkulinimpfung beträchtlich herabgesetzt wird. Wie auch der Vorgang sich abspielen mag, eins tritt deutlich hervor: die Abwehrkraft der Zellen ist so vermindert, daß der Tuberkulinreiz zu fast keinem Effekt mehr führt. Die Schädigung der Zellen durch den Vitaminmangel wird dadurch deutlich erkennbar.

Sie zeigt sich aber auch noch in anderer Beziehung. Die mittlere Temperaturdifferenz während des Ablaufs der Tuberkulinreaktion ist bei den einzelnen Gruppen nach Tab. II sehr charakteristisch. Die normal ernährten Tiere reagieren in der gewohnten Weise mit einem Temperaturanstieg, die tuberkulösen mit 0,7°, die nichttuberkulösen mit 0,2°. Die Skorbuttiere dagegen zeigen nicht nur keine Zunahme der Temperatur, sondern im Gegenteil einen Temperatur-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abfall, der bei den nicht infizierten Tieren (—1,0) noch größer ist als bei den tuberkulösen (—0,7). Diese Tatsache ist sehr interessant und dürfte sich vielleicht so erklären, daß die infolge der Vitaminarmut offenbar vorhandene Neigung zu Untertemperaturen beim tuberkulösen Tiere während der Tuberkulinreaktion nicht voll in die Erscheinung treten kann, da das an sich temperatursteigernd wirkende Tuberkulin zu einem gewissen Ausgleich der Noxen führt. Für eine allgemeine Neigung zur Verminderung der Körpertemperatur infolge Vitaminmangels sprechen die Befunde Werkmans, der eine solche bei Ratten während der Fütterung feststellen konnte und auch anderen Autoren ist die Temperaturherabsetzung bei vitaminarm ernährten Tieren bekannt. Ich habe bei meinen Tieren die Temperatur nicht während der ganzen Dauer des Versuchs gemessen, doch sprechen die kurz vor der Tuberkulinimpfung angestellten Messungen nicht für eine ständig vorhandene Temperaturverminderung. Sie tritt bei meinen Tieren erst unter der Einwirkung des Tuberkulinreizes ein, das die Wärmebildung der Zelle gewissermaßen schockartig zu lähmen scheint. Dagegen ließ sich an Vitamin-B-arm ernährten Tauben[1]) schon frühzeitig eine Temperatursenkung feststellen. Daß hier Beziehungen zur Resistenzverminderung vitaminarmer Tiere gegenüber akuten Infektionen bestehen, kann mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden.

Die bereits erwähnten Feststellungen von Nassau und Scherzer, nach denen der Verlauf des Skorbut durch die Infektion beschleunigt wird, konnte ich bei meinen Versuchen bestätigen. Nach Tab. IV betrug die mittlere Lebensdauer:

Tabelle IV.

Mittlere Lebensdauer.

Skorbutig und tuberkulös	17,2	Tage
Normal ernährt tuberkulös	über 32	„
Skorbutig, nicht infiziert	24	„
Hungerfütterung, nicht infiziert[2])	32,3	„

Zusammenfassung.

C-vitaminfrei ernährte tuberkulöse Meerschweinchen verlieren die normale Reaktionsfähigkeit der Haut auf Tuberkulin, sie ist entweder deutlich abgeschwächt oder tritt überhaupt nicht in Erscheinung. Gleichzeitig findet sich an Stelle des Temperaturanstieges bei normal ernährten tuberkulösen Kontrolltieren kein Fieber, sondern sogar Temperaturabfall. Bei den infizierten und vitaminfrei ernährten Tieren ist die mittlere Lebensdauer geringer als bei den nicht infizierten.

Literatur.

1) Funk, Die Vitamine. München u. Wiesbaden (Bergmann) 1922. — 2) Stolte, Dtsch. med. Wochenschr. 1923. S. 1036. — 3) Stepp, Volkswohlfahrt. 1922. S. 422. — 4) Abderhalden, Pflügers Arch. Bd. 193. S. 329. — 5) Werkman, Journ. Inf. Dis. Vol. 32. 1923. p. 247. — 6) Setti, Biochim. et terap. sperim. 1922. p. 197. — 7) Cramer, Lancet. Vol. 201. 1921. p. 1202. — 8) Guerini, Pathologica. Vol. 13. 1921. p. 447; Ann. d'ig. Jahrg. 31. 1921. p. 597. — 9) d'Asaro Biondo, Policclinico sec. prat. 1922. p. 3. — 10) Renon, Bull. gén. de thérap. 1914. p. 91. — 11) Muthu, Brit. med. Journ. 1920. p. 160. — 12) Zilva, Bioch. Journ. 1919. p. 172. — 13) Kleinschmidt, Monatsschr. f. Kinderheilk. 1913. S. 423. — 14) Hektoen,

1) In einem anderen meiner Versuche.

2) Diese Gruppe von Tieren erhielt ein normales Futter, das nur quantitativ vermindert war, so daß ein entsprechender Gewichtsabfall wie bei den vitaminfrei ernährten Tieren erzielt wurde.

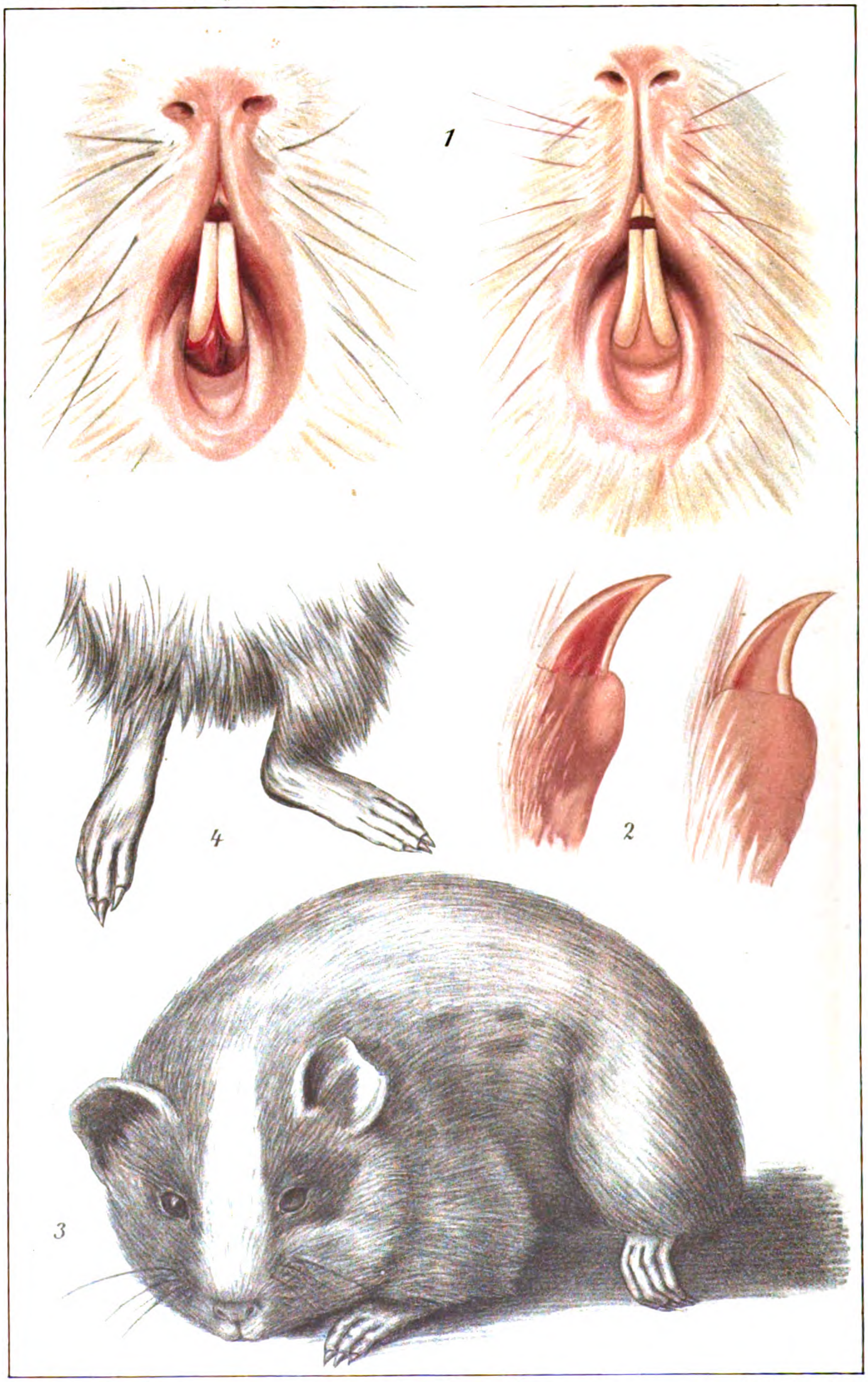
Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von **Gustav Fischer** in Jena

P. Weise, Lith., Jena

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Journ. Inf. Dis. 1914. p. 279. — 15) Findlay, Bioch. Journ. 1922. p. 574. — 16) Arkin, Journ. Inf. Dis. 1913. p. 418. — 17) Findley, Marshall, G., Journ. path. a. bacteriol. 1923. p. 485. — 18) Nassau u. Scherzer, Kl. Wochenschr. 1924. p. 314.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Skorbutiges Meerschweinchen. Zahnfleisch der unteren Schneidezähne aufgelockert, gequollen, purpuren. Normales Meerschweinchen.

Fig. 2. Zehe eines skorbutigen und eines normalen Meerschweinchens im durchfallenden Lichte. Starke Rötung beim skorbutigen Tier (links).

Fig. 3. Skorbutiges Meerschweinchen mit eigenartiger Zwangshaltung des linken Hinterbeines (Abduktion, Pronation, Einkrallung der Zehen).

Fig. 4. Skorbutiges Meerschweinchen, abnorme Stellung des linken Vorderfußes, beruhend auf Epiphysenlösung.

Nachdruck verboten.

Versuche zur Beseitigung der heterologen Trübungen bei präzipitierenden Eiweissantiseren.

[Aus dem Serologischen Laboratorium der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes.]

Von Dr. **H. Beger,** Berlin-Dahlem.

Bekanntlich geben manche präzipitierende Antisera neben den Verwandtschaftsreaktionen, der Mitpräzipitation verwandter Eiweißarten, auch mit nicht verwandten Eiweißlösungen Fällungen, die von Uhlenhuth (1) als „heterologe Trübungen" bezeichnet werden. Solche „übergreifende" Antisera sind, sofern eine Mitpräzipitation auch in den bei der praktischen Eiweißdifferenzierung in Anwendung kommenden starken Verdünnungen des Antigens (1:1000 und mehr) auftritt, unbrauchbar, und nach dem Vorschlage von Uhlenhuth von der Verwendung in der Praxis auszuschließen. Nach den Erfahrungen von Manteufel und Beger (2) kamen derartige starke heterologe Trübungen bei den präzipitierenden Antiseren in ca. 13 Proz. der Fälle vor, berechnet auf die Gesamtzahl der Antisera, die eine praktisch brauchbare Titerhöhe erreichen; weitere 24 Proz. gaben mit einzelnen Antigenverdünnungen 1:100 und 1:200 geringe Reaktionen. Die letztgenannten Antisera wären also zwar nicht absolut spezifisch, aber doch praktisch brauchbar. Dagegen fanden die Autoren niemals ein Uebergreifen der heterologen Trübungen bis zur homologen Titerhöhe des Antiserums. Demgegenüber haben Friedberger und Meißner (3) bei ihren Untersuchungen 47 Proz. übergreifende präzipitierende Antisera beobachtet, und zwar bei 13,5 Proz. bis zur Titerhöhe für das Antigen der Vorbehandlung. Aehnliche Zahlen gibt Gertrud Meißner (4) an, die 44,2 Proz. übergreifende Antisera hatte, von denen 11,7 Proz. mit dem „heterogenetischen" Antigen etwa gleich stark wie mit dem Antigen der Vorbehandlung reagierten. Zur Beseitigung der heterologen Trübungen und Brauchbarmachung dieser übergreifenden Antisera für diagnostische Zwecke haben Friedberger und seine Mitarbeiter neuerdings die Absättigung mit Blutzellen als praktisch brauchbare Methode empfohlen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

I. Absättigungsversuche.

Absättigungsversuche bei präzipitierenden Antiseren sind zuerst von Ascoli (5) ausgeführt worden. Nach den Untersuchungen von Obermayer und Pick (6), Rostosky (7), Umber (8), Michaelis und Oppenheimer (9), Michaelis (10), Landsteiner und Calvo (11), sowie von Fuhrmann (12), mit den verschiedenen auf chemischem Wege getrennten Fraktionen des Serumeiweißes spezifische Präzipitine für die einzelnen Eiweißkörper zu erhalten, wird nicht nur die zur Immunisierung verwendete Eiweißfraktion, sondern auch das Eiweiß der anderen Fraktionen derselben Spezies ausgefällt. Von diesen Beobachtungen ausgehend, versuchte Ascoli auf dem Wege der elektiven Absättigung die Vielheit und Spezifität der dabei in Reaktion tretenden Eiweißkörper nachzuweisen. Ascoli verwendete zur Behandlung der Versuchskaninchen teils Pferdevollblut, teils isolierte Eiweißfraktionen desselben, und zwar Lösungen von Euglobulin, Pseudoglobulin und 2 Albuminen. Die mit den einzelnen Fraktionen gewonnenen Antisera erzeugten alle einen Niederschlag in sämtlichen erwähnten Eiweißlösungen. Beim Absättigen jedoch ergab sich, daß in allen Fällen, in denen die Antisera durch die homologe Fraktion erschöpft worden waren, ein späterer Zusatz der heterologen keine Präzipitation mehr hervorrief, während ein durch die heterologe Fraktion quantitativ ausgefälltes Antiserum mit der homologen Fraktion immer noch reichlich Niederschläge gab. Michaelis (13) berichtete über ganz entsprechende Resultate. Auch Bertarelli (14) konnte durch die Methode der elektiven Absorption spezifische Unterschiede zwischen den Präzipitinen für Serumglobulin und Serumalbumin nachweisen. Diesen positiven Resultaten stehen durchaus negative Befunde von Obermayer und Pick (15) gegenüber. Kister und Weichardt (16) haben 1902 das Absättigungsverfahren bei übergreifenden Antiseren angewandt, um dieselben spezifisch zu machen, indem sie die Antisera mit dem Eiweiß, auf das sie übergriffen, absättigten. Sie setzten zu diesem Zwecke z. B. zu Pferdeantiserum, das auch auf Menschenblut einwirkte, Menschenblut im Verhältnis 1:10 zu, zentrifugierten das Präzipitat und die Blutzellen ab und versetzten die abgegossene klare Flüssigkeit nochmals mit Menschenblut im Verhältnis 1:10, wobei wiederum eine Trübung entstand. Es mußte noch zweimal Menschenblut hinzugefügt werden, um zu erreichen, daß das Pferdeantiserum nicht mehr mit Menschenblutlösungen reagierte. Zusatz von Pferdeblut zu diesem nicht mehr auf Menschenblut übergreifenden Pferdeantiserum bewirkte dagegen eine sofortige Trübung.

Eine Bestätigung haben die Versuche Ascolis auch in Untersuchungen Weichardts (17) gefunden, der mittels dieser Absättigungsmethode das Blut nahe verwandter Arten z. B. Mensch und Affe, ja sogar artgleicher Individuen voneinander unterscheiden zu können glaubte. Die Befunde sind aber bisher von keiner Seite bestätigt und auch von Weichardt selbst nicht weiter verfolgt worden, so daß sie mit der gebotenen Zurückhaltung zu bewerten sind.

Mit Hilfe der elektiven Absättigung war es dann weiterhin möglich, Antisera herzustellen, die nur mit den homologen, nicht aber mit anderen Organextrakten eines und desselben Individuums Präzipitate lieferten. Solche Versuche sind ebenfalls zuerst von Weichardt (17) ausgeführt worden. Auch Liepmann (18) berichtet in Uebereinstimmung mit Weichardt über ein Antiserum, das durch Vorbehandlung

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

mit menschlichem Plazentarzotteneiweiß hergestellt war und nach Absättigung mit menschlichem Blutserum nur in Plazentarzotteneiweißlösungen einen Niederschlag erzeugte. Mertens (19) versuchte mit Hilfe des Absättigungsverfahrens das Serum von Gesunden und Karzinomatösen zu unterscheiden, ohne jedoch mit seiner allerdings anfechtbaren Versuchsanordnung positive Resultate zu erzielen. Dagegen gelang es Maragliano (20) auf dem Wege der Absättigung karzinomatöses Gewebe und Blut zu unterscheiden.

Eine weitere Bestätigung für die Möglichkeit, Bluteiweiß und Organeiweiß der gleichen Tierart serologisch zu unterscheiden, brachte die interessante Arbeit von Forssner (21), dem eine Unterscheidung von Leber-, Nieren- und Bluteiweiß des Meerschweinchens gelang. Forssner benutzte zur Immunisierung seiner Kaninchen Organaufschwemmungen eines durch Durchspülen mit physiologischer Kochsalzlösung möglichst stark entbluteten Meerschweinchens. Die mit Leberemulsion hergestellten Leberantisera wurden beim Absättigungsversuch durch den homologen Leberauszug vollkommen erschöpft, dagegen zeigten sie nach Absättigen mit Nierenauszug noch Präzipitation mit Leberauszuglösungen, jedoch keinen weiteren Niederschlag mit Milzauszug und Meerschweinchenserum. Andererseits traten nach dem Absättigen mit Milzauszug bzw. Meerschweinchenserum noch immer Fällungen sowohl mit Leber- als auch mit Nierenauszuglösungen auf. Ganz entsprechende Ergebnisse zeigten die Absättigungsversuche bei den mit Nierenemulsion hergestellten Nierenantiseren. Forssner folgert deshalb aus seinen Versuchen, daß durch Injektion von Organextrakten des Meerschweinchens im Serum von Kaninchen verschiedene Partialpräzipitine erzeugt werden: Ein Teil ist für alle Eiweißlösungen der benutzten Tierart gemeinsam, ein anderer Teil für das Leber- und Nierengewebe gemeinsam, ein 3. Teil aber ist für die einzelnen Extrakte streng spezifisch. Die Untersuchungen von Grund (22) bestätigten im wesentlichen die Resultate von Forssner. Grund spritzte die Organe als Preßsäfte ein, die er nach Verreiben mit Kieselgur unter einem Druck von 300 Atmosphären in der Buchnerschen Presse gewann. Mit Hilfe der spezifischen Absättigung war er imstande, Blut- und Organeiweiß spezifisch voneinander zu trennen.

Zu widersprechenden Resultaten kam Strube (23) bei seinen Versuchen, menschliches Sperma durch elektive Absättigung zu identifizieren. Diese Untersuchungen können jedoch nicht als beweisend angesprochen werden, da Strube die Spermalösungen zuerst mit Blutantiserum erschöpfte und dann sein Spermaantiserum zusetzte. Strube ist der gleiche Eiwand einer unzweckmäßigen Versuchsanordnung wie der oben genannten Arbeit von Mertens zu machen. Der richtigere Weg wäre gewesen, das Spermaantiserum durch elektive Absättigung mit anderen Eiweißkörpern derselben Spezies spezifisch zu machen. Ferner ist einzuwenden, daß Strube zu seinen Immunisierungsversuchen nicht ausschließlich Sperma, sondern „Hodenextrakte" benutzte. H. Pfeiffer (24), der zu seinen Versuchen reine Spermatozoen verwendete, kam zu analogen Resultaten, wie sie Forssner und Grund veröffentlicht haben. Pfeiffer injizierte Kaninchen Spermatozoen des Rindes, die durch Waschen und Trocknen nach Möglichkeit von anhaftendem Blute und Gewebssaft befreit waren und stellte auf diesem Wege Antisera her, die in Spermalösungen und Hodenauszügen fast momentane starke Präzipitate ergaben. Auf andere Organauszüge vom Rinde reagierten diese Spermaantisera erst nach längerer Zeit mehr oder minder schwach. Auf

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem Wege der elektiven Absättigung mit artgleicher Nierenauszuglösung gelang es, diese Antisera streng spezifisch für Spermalösungen zu machen, so daß sie nur mit Spermalösungen und Hodenauszügen reagierten, dagegen nicht mit Blut, Serum, Eiter, Niere, Milz, Pankreas, Muskel und Genitalschleim vom Rinde. Pfeiffer vermochte mit solchen Seren auch in Gemischen von Sperma und anderen Organextrakten das homologe Eiweiß nachzuweisen. Hektoen (42) berichtete, daß Antisera, die er von Kaninchen durch Einspritzen von menschlichem oder tierischem Samen erhielt und die sowohl das Blutserum wie Samenflüssigkeit der betreffenden Art präzipitierten, nach dem Absättigen mit Blutserum allein gegen Samen wirksam blieben. Für Sperma spezifische Antisera erzielten Hektoen und Manly (25) auch durch Absättigen von Antiseren, die sie durch intramuskuläre Injektionen von filtriertem Spermaextrakt in Kochsalzlösung bei Kaninchen gewonnen hatten. Um die gegen Menschenserum vorhandenen Präzipitine zu entfernen, wurde das Antiserum mit der gleichen Menge Menschenserum in der Verdünnung 1:200 gemischt und nach 1 Tage Stehen im Eisschrank der entstandene Niederschlag abzentrifugiert.

Hektoen und Schulhof (26) konnten durch Einspritzen besonders hergestellter reiner Hämoglobinextrakte Antisera gewinnen, die in den meisten Fällen nur Präzipitine für das Hämoglobin enthielten, nicht jedoch für das entsprechende Blutserumeiweiß. Beim Absättigen eines solchen auf Mensch- und Schafhämoglobin übergreifenden Rinderhämoglobinantiserums gelang es ihnen, durch Schaf- oder Menschenhämoglobin die übergreifenden Präzipitine zu entfernen, während das homologe Rinderhämoglobin unverändert blieb. Durch Einwirkung von Rinderhämoglobin wurden alle Präzipitine entfernt.

Neuerdings hat Friedberger mit seinen Mitarbeitern Collier (27), Jarre (28) und Meißner (3) das Absättigungsverfahren wieder empfohlen, um aus übergreifenden Antiseren die „heterogenetischen" Präzipitine zu entfernen. Unter „heterogenetischen" Präzipitinen wollten Friedberger und seine anfänglichen Mitarbeiter (Collier und Jarre) zuerst solche verstanden wissen, die auf die Antigene nicht verwandter Eiweißarten übergreifen und dabei ähnlichen Gesetzen folgen, wie sie Forssman (29) und andere bei den heterogenetischen Hämolysinen ermittelt haben. Solche Hämolysine entstehen bekanntlich, wenn man z. B. Kaninchen mit Organaufschwemmungen von Meerschweinchen oder Pferden vorbehandelt; in diesem Falle treten heterogenetische Hämolysine für Hammelblut auf, und in ähnlicher Weise sollte sich bei der Gewinnung präzipitierender Pferdeantisera nach der Ansicht dieser Autoren das Auftreten von heterogenetischen Präzipitinen erklären, die an Häufigkeit und Stärke den isogenetischen gleichkommen oder sie übertreffen. In der späteren Arbeit von Friedberger und Meißner (3) ist dann von Friedberger der Begriff der heterogenetischen Präzipitine geändert und damit einem Teile der Einwände, die Manteufel und Beger (2) auf Grund ihrer Untersuchungen zu machen hatten, der Boden entzogen worden. Friedberger hat diese taktische Schwenkung zwar zu einer Polemik gegen die Ergebnisse von Manteufel und Beger benutzt, aber damit doch zugegeben, daß er an einer dem Forssmanschen Gesetz folgenden Entstehung heterogenetischer Schafpräzipitine bei der Immunisierung mit Pferdeserum nicht mehr festhält. In einer gemeinsamen Arbeit berichteten zunächst Friedberger und Collier (27), daß es ihnen gelungen sei, bei übergreifenden Pferde-

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

antiseren durch Ausfällen mit gewaschenen Hammelblutkörperchen alle heterologen Präzipitine (also nicht nur die für Schaf und seine Verwandtschaft) zu entfernen, ohne daß das isogenetische Hauptpräzipitin beeinflußt worden sei. Diese Ausfällung erfolgte sowohl mit gewaschenen frischen als auch mit gewaschenen auf 100° C erhitzten Hammelblutkörperchen. Friedberger und Jarre (28) haben diese Untersuchungen fortgesetzt und die verschiedensten Antisera mit gewaschenen nativen bzw. auf 100° C erhitzten Hammelblutkörperchen sowie mit Kaninchen- und Meerschweinchenblutkörperchen und auch mit verschiedenen fein verriebenen und gewaschenen Organzellenaufschwemmungen dieser Tiere ausgefällt. Dabei zeigte sich, daß es keineswegs regelmäßig gelang, mit gewaschenen Hammelblutkörperchen die übergreifenden Präzipitine zu entfernen. Während bei einzelnen Antiseren die Ausfällung der übergreifenden Präzipitine relativ leicht durch Absättigen mit Hammelblutkörperchen erfolgte, war bei anderen Antiseren der verschiedensten Tierarten irgendeine Einwirkung auf die heterologen Präzipitine durch Ausfällungsversuche mit Blutkörperchen von Hammel, Rind, Meerschweinchen, Kaninchen und Mensch, sowie durch Organzellenaufschwemmungen von Meerschweinchen und Kaninchen nicht zu erzielen. Auch das homologe Hauptpräzipitin dieser Antisera verhielt sich gegenüber den Absättigungsversuchen wechselnd, indem es zuweilen keine Beeinflussung, mitunter jedoch auch eine wesentliche Abschwächung erfuhr. Manteufel und Beger (2) ist eine praktisch brauchbare Absättigung übergreifender Antisera durch gewaschene Hammelblutzellen nicht gelungen. Als Absättigungsmittel haben sie neben gewaschenen Blutkörperchen von Hammel, Ziege, Rind, Meerschweinchen, Kaninchen und Mensch Organzellen von Kaninchen und Meerschweinchen sowie getrocknete auf 100° C erhitzte Sera und frisches gewaschenes Fibrin der verschiedensten Tierarten verwendet. Die Absättigungsversuche wurden daraufhin, entsprechend den Erfahrungen bei dem Castellanischen Versuch mit agglutinierenden Seren, an Verdünnungen der Antisera vorgenommen, weil bei verdünnten Immunseren die Bedingungen der Absättigung ja günstiger liegen. Aber auch bei dieser Versuchsanordnung gelang es nicht, durch Absättigen mit dem homologen gewaschenen Blut alle Hauptpräzipitine zu entfernen; ebensowenig war es möglich, die Verwandtschaftsreaktionen durch Absättigen mit dem verwandten Antigen zu beseitigen, oder übergreifende Antisera von den heterologen Trübungen zu befreien. Friedberger und Meißner (3) versuchen zwar, die unbefriedigenden Ergebnisse von Manteufel und Beger auf technische Unzulänglichkeiten zurückzuführen, haben aber bei Fortführung der Versuche dann selbst an Stelle gewaschener Blutkörperchen gut zentrifugierte ungewaschene Erythrozyten verwendet. Wurde ein übergreifendes Antiserum mit den betreffenden heterologen ungewaschenen Blutzellen ausgefällt, so ging das heterogenetische Präzipitin verloren, das isogenetische blieb quantitativ nahezu vollständig erhalten, so daß ein derartiges Antiserum streng spezifisch wurde. Wurde dagegen ein übergreifendes Antiserum mit dem isogenetischen ungewaschenen Blute ausgefällt, so wurden sowohl die isogenetischen als auch die heterogenetischen Präzipitine herausgenommen. Bei Ausfällung mit gekochten Blutzellen wurde sowohl durch das isogenetische wie durch das heterogenetische Antigen nur das heterogenetische Präzipitin entzogen. Friedberger und Meißner glauben, mit dieser Absättigung durch

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

gekochte ungewaschene Blutzellen eine praktisch brauchbare Methode zur Beseitigung der heterologen Trübungen gefunden zu haben.

Während Friedberger und seine Mitarbeiter, sowie Manteufel und Beger keine Verwandtschaftsdifferenzierung mit dem Absättigungsversuch zu erreichen vermochten, erzielte Fürth (30) nach seiner in jüngster Zeit veröffentlichten Arbeit bei Rinderantiseren durch Absättigung positive Ergebnisse. Die verwendeten Rinderantisera wurden mit gleichen Mengen nativen Serumantigens, beide in 5-facher Verdünnung, abgesättigt. Dabei zeigte sich, daß die mit Rinderserum behandelten Rinderantisera, die vorher auch Hammel- und Ziegensera gleich hoch präzipitierten, ihre Wirksamkeit für Rinder-, wie Hammel- und Ziegeneiweiß vollkommen verloren hatten und keine Präzipitation mehr gaben. Hingegen erwiesen sich die mit Ziegenserum behandelten Rinderantisera jetzt als spezifisch für Rind; sie beeinflußten weder Ziegen- noch Hammelserum, gaben aber mit Rinderserum noch deutliche Präzipitation. Die daraus ersichtliche Gleichheit der Nebenrezeptoren für Hammel- und Ziegenserum ließ auch bei den auf dieselbe Weise durchgeführten Absättigungsversuchen mit Hammel- und Ziegenantiserum keine Differenzierung zu. Die Hammel- und Ziegenantisera, die unbehandelt Hammel- und Ziegenserum ungefähr gleich stark, Rinderserum deutlich schwächer präzipitierten, verloren nach der Behandlung mit Hammel- und Ziegenserum vollständig ihre präzipitierenden Eigenschaften.

Aus dieser Zusammenstellung der Literatur ergibt sich, daß außer den von Friedberger und seinen Mitarbeitern angezogenen bereits längere Zeit zurückliegenden Arbeiten von Ascoli und Weichardt auch eine ganze Reihe weiterer Autoren sich vor Friedberger bereits mit Absättigungsversuchen beschäftigt haben. Kister und Weichardt (16) haben sie sogar schon zur Beseitigung der heterologen Trübungen benutzt, die ja nichts anderes sind als die Auswirkung der heterogenetischen Präzipitine im Sinne von Friedberger. Wie aus obiger Zusammenstellung hervorgeht, sind die Ergebnisse der einzelnen Autoren sehr wechselnd: Den Untersuchern, denen mit dem Absättigungsverfahren eine weitgehende Organdifferenzierung, ja sogar eine Blutdifferenzierung artgleicher Individuen gelang, wobei allerdings Bestätigungen

Ta

Pferdeanti

	Konzentriertes Antiserum												
	Pferd			Hammel		Ziege		Rind		Mensch		Schwein	
	1000	10 000	20 000	100	1000	100	1000	100	1000	100	1000	100	1000
Unabgesättigt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Abgesättigt mit ungewaschenen Menscbhenlutkörperchen	+	+	+	±	±	±	±	+	+	±	±	+	+
Abgesättigt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

durch andere Forscher fehlen, stehen andere gegenüber, die gegenteilige Befunde erhoben haben. Es erschien daher angezeigt, mit Hilfe der Absättigungsmethode an einem größeren Material von präzipitierenden Antiseren Untersuchungen vorzunehmen.

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden im Serologischen Laboratorium der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgsundheitsamtes in Fortsetzung früherer von Manteufel und Beger veröffentlichter Untersuchungen an präzipitierenden Antiseren ausgeführt, die zur Abgabe an andere Dienststellen hergestellt waren, sich aber infolge Auftretens heterologer Trübungen bis zur Antigenverdünnung 1:1000 als ungeeignet für die Abgabe erwiesen hatten. Bei diesen Versuchen war erstens der Gedanke leitend, für praktische Zwecke eine brauchbare Methode zur Beseitigung der heterologen Trübungen bei übergreifenden Antiseren zu erhalten und zweitens, durch Ausschaltung der Verwandtschaftsreaktionen artspezifische Antisera darzustellen, die es bekanntlich in diesem Maße zur Unterscheidung z. B. von Pferd und Esel, Rind, Schaf, Ziege oder Rehwild noch nicht gibt.

Das aus der Ohrvene oder durch Herzpunktion gewonnene Serum der Kaninchen wurde klar zentrifugiert und unfiltriert dem Absättigungsverfahren unterworfen. Die Absättigung selbst wurde in der Regel mit unverdünnten Seren, meist auch noch mit Serumverdünnungen vorgenommen. Als Absättigungsmittel wurden nach dem Vorschlage von Friedberger und Meißner ungewaschene native, sowie 10 Min. auf 100° erhitzte rote Blutkörperchen von Hammel, Ziege, Rind, Mensch, Pferd und Kaninchen verwendet. Von den durch scharfes Ausschleudern, Abgießen und Absaugen des Restserums gewonnenen roten Blutkörperchen wurde 0,1 ccm nach der Angabe von Friedberger und Meißner auf je 1,0 ccm des abzusättigenden Antiserums durch wiederholtes Umschütteln zur Einwirkung gebracht und das Gemisch 2 Std. im Brutschrank bei 37° C belassen. In einzelnen Versuchen wurden nach der Angabe von Friedberger und Meißner statt ungewaschener nativer 10 Min. bei 100° C gekochte ungewaschene rote Blutkörperchen genommen. Von der mit einem Platinspatel zerkleinerten bröckligen schwarzbraunen Masse wurde 0,1 g in je 1,0 ccm Antiserum aufgeschwemmt. Nach dem Binden wurde scharf zentrifugiert und der

belle I.
serum Nr. 570.

	Antiserumverdünnung 1:3												
	Pferd			Hammel		Ziege		Rind		Mensch		Schwein	
	1000	10 000	20 000	100	1000	100	1000	100	1000	100	1000	100	1000
Unabgesättigt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	+	±	±	±	±	+	+	—	—	±	±
Abgesättigt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

klare Abguß zur Anstellung der Präzipitinreaktion nach der Originalmethode von Uhlenhuth verwendet. Das Ergebnis der eingetretenen Reaktion wurde grundsätzlich nach 10 Min. abgelesen.

Aus den zahlreichen von mir vorgenommenen Untersuchungen lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1) Die Absättigung mit gekochten Blutkörperchen ist mir nicht gelungen. Als Beispiel zahlreicher derartiger Versuche sei ein Pferdeantiserum Nr. 570 angeführt (siehe Tab. I), das beim Anstitrieren neben dem homologen Titer von 20 000 + ein Uebergreifen auf Hammel-, Ziegen-, Rinder-, Menschen- und Schweineeiweißlösungen bis zur Verdünnung 1:1000 + zeigte. Dieses Antiserum ließ durch Behandeln mit gekochten Hammel- oder Menschenblutkörperchen keine Beeinflussung seines Präzipitingehaltes erkennen, obwohl nach Friedberger und Meißner dadurch die heterologen Trübungen sich hätten beseitigen lassen müssen. Ebenso negativ verlief der Absättigungsversuch bei dem mit NaCl-Lösung im Verhältnis 1:3 verdünnten Antiserum. Daß die Beseitigung der übergreifenden Präzipitine in diesem Falle tatsächlich möglich war, ergab die Absättigung mit nativen ungewaschenen Hammelblutkörperchen, wodurch das Antiserum streng spezifisch wurde.

2) Die Absättigung mit nativen Blutkörperchen ist mir nicht regelmäßig gelungen.

Aus der Zahl der bei diesen Versuchen einwanfrei abgesättigten Antisera sei das Schweineantiserum Nr. 543 erwähnt (siehe Tab. II),

Ta

Schweineanti

	Konzentriertes Antiserum								
	Schwein			Mensch		Pferd		Rind	
	1000	10 000	20 000	100	1000	100	1000	100	1000
Unabgesättigt	+	+	+	+	±	+	±	+	±
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen	+	+	+	±	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	±	+	±	+	±	+	±
Abgesättigt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen	+	+	±	—	—	±	—	±	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	±	+	±	+	±	+	±

dessen heterologe Präzipitate für Menschen-, Pferde- und Rindereiweißlösungen bis 1:1000 durch Absättigen mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen vollständig entfernt wurden. Auch bei dem oben erwähnten Pferdeantiserum Nr. 570 ließen sich durch Absättigen mit nativen Hammelblutkörperchen die heterologen Präzipitate restlos beseitigen. Etwas anders verhielt sich das Pferdeantiserum Nr. 723, das bei der Auswertung neben dem homologen Titer von 20 000 +, auf Mencheneiweiß bis 1:200 +, auf Schweine- und Rindereiweiß bis 1:1000 + übergriff. Da Pferde- und Rinderblutkörperchen nicht zur Verfügung standen, wurde es der Behandlung mit nativen Menschenblutkörperchen unterworfen, wodurch nach

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Friedberger und Meißner alle übergreifenden Präzipitine sich hätten beseitigen lassen müssen. Es gelang in der Tat, das heterologe Präzipitin für Menscheneiweiß zu entfernen, während Rinder- und Schweineeiweiß auch weiterhin in unverminderter Stärke ausgefällt wurden. Andere Antisera zeigten sich beim Absättigen vollkommen unbeeinflußbar, so daß den positiven Ergebnissen an Zahl mindestens ebensoviele negative gegenüberstehen. Ein Uebelstand, der beim Absättigen mit nativen Blutkörperchen sehr häufig eintritt, besteht darin, daß die Antisera beim Binden die Blutzellen häufig mehr oder weniger stark lösen und hämoglobinhaltig werden. Der als Ursache in Betracht kommende Gehalt der Antisera an Normalhämolysinen wurde durch Zerstören des Komplementes auszuschalten versucht, indem sowohl die Antisera als auch die zum Absättigen bestimmten Blutkörperchen vorher 1 Std. bei 56° C. inaktiviert wurden[1]). Auch bei dieser Vorsichtsmaßnahme ließ sich die Hämolyse nicht mit einer für die praktische Verwertung nötigen Sicherheit ausschalten. Man läuft vielmehr bei jedem Absättigungsversuch mit nativen Blutkörperchen Gefahr, daß das Antiserum hämolytisch und dadurch für die Abgabe zu praktischen Zwecken unbrauchbar wird.

3) Die Verwandtschaftsdifferenzierung nach Fürth gelingt nicht. Die nach dem von Fürth (30) angegebenen Verfahren angestellten Versuche wurden nach der Angabe des Autors mit Antiseren und frisch entnommenen Serumantigenen vorgenommen, die beide mit isotonischer Kochsalzlösung 5-fach verdünnt waren, wobei gleiche Teile Antiserum

belle II.
serum Nr. 543.

Antiserumverdünnung 1 : 3	Schwein			Mensch		Pferd		Rind	
	1000	10 000	20 000	100	1000	100	1000	100	1000
Unabgesättigt	+	+	±	±	—	±	—	±	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen	+	+	±	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Hammelblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	±	±	—	±	—	±	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen	+	+	±	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen, gekocht 10 Min. bei 100° C	+	+	±	±	—	±	—	±	—

und Antigenserum zur Einwirkung gebracht wurden. Zur Kontrolle wurden auch Versuche mit konzentriertem Antiserum an unverdünnten Antigenseren ausgeführt. Als Beispiel führe ich ein Rinderantiserum Nr. 740 an (siehe Tab. III). Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen konnte die Möglichkeit einer Differenzierung zwischen Rindereiweiß einerseits und Hammel- und Ziegeneiweiß andererseits, wie Fürth es angibt,

1) Dabei sei bemerkt, daß das Inaktivieren der präzipitierenden Antisera nach den gemachten Erfahrungen durchaus keinen belanglosen Eingriff darstellt, da die Präzipitine sich gegenüber der Erwärmung auf 56° C anscheinend weit empfindlicher zeigen als z. B. die Agglutinine.

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Ta

Rinderanti

	Konzentriertes Antiserum											
	Rind			Hammel			Ziege			Mensch	Pferd	Schwein
	1000	10 000	20 000	1000	10 000	20 000	1000	10 000	20 000	100	100	100
Unabgesättigt	+	+	+	+	+	±	+	+	±	+	+	+
Abgesättigt mit konzentriertem Rinderserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit konzentriertem Hammelserum	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit konzentriertem Ziegenserum	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

nicht entnommen werden, da sowohl Rinder- wie Hammel- und Ziegenserum die Antisera vollständig erschöpften. Für praktische Zwecke dürfte das Fürthsche Verfahren zudem in seiner Anwendbarkeit dadurch beschränkt sein, daß man derartig abgesättigte verdünnte Antisera nicht in den Verkehr bringen kann. Abgesehen von dem Nachteil, der mit der praktischen Verwendung schwachwertiger Antisera an sich verknüpft ist, steht dem auch die Erfahrungstatsache entgegen, daß alle Immunsera, z. B. agglutinierende Sera, Ambozeptoren in Verdünnungen ihren Titer meist rasch verlieren und unbrauchbar werden.

II. Immunisierungsversuche mit gekochtem Serumeiweiß.

Da die Herstellung spezifischer Antisera aus übergreifenden, bzw. verwandte Eiweißarten stark mitpräzipitierenden Antiseren durch Absättigung nach meinen Erfahrungen erheblichen Schwierigkeiten begegnet und an und für sich für praktische Zwecke wenig aussichtsvoll erscheint, wurde von weiteren Versuchen in dieser Richtung abgesehen. Ratsamer als die nachträgliche Beseitigung der heterologen Trübungen erschien es von vornherein, durch Injektion besonders vorbehandelter und ausgewählter Antigene auf die Erhöhung einer strengen Artspezifität der Antisera hinzuwirken. In diesem Sinne gaben die neuerdings von Fujiwara (31) veröffentlichten Untersuchungen, als Injektionsmaterial zur Herstellung präzipitierender Menschenantisera durch Hitze koaguliertes Serumeiweiß zu verwenden, Gelegenheit zu weiteren Untersuchungen. Ohne genauer auf die theoretischen Grundlagen der Verwendung gekochter Antigene zur Herstellung von Immunsera einzugehen, bezeichnet Fujiwara als Vorzug seiner Methode den Umstand, daß es mit Leichtigkeit gelingt, bei voller Wahrung der Spezifität hochwertige Menschenantisera mit einem Titer von 1:20 000—50 000 zu gewinnen. Zur Herstellung des Antigens verdünnt Fujiwara das Serum mit dem 10-fachen Volumen destillierten Wassers, fügt $^1/_5$ Volumen gesättigte NaCl-Lösung sowie einige Tropfen Essigsäure hinzu und kocht das Ganze auf dem Wasserbade, bis das Eiweiß vollständig koaguliert ist. Das ausgefällte Eiweiß wird auf einem Filter gesammelt, von der anhaftenden Flüssigkeit nach Möglichkeit durch Auspressen befreit und unter Toluol aufbewahrt. Zur Injektion werden ca. 0,02 g dieses kochkoagulierten Eiweißes in einem Mörser unter tropfenweisem Hinzufügen von 2,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu einer gleichmäßig feinen Aufschwemmung verrieben und in die Ohrvene bei Kaninchen 10mal an jedem 2.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

belle III.
serum Nr. 740.

	Antiserumverdünnung 1:5											
	Rind			Hammel			Ziege			Mensch	Pferd	Schwein
	1000	10 000	20 000	1000	10 000	20 000	1000	10 000	20 000	100	100	100
Unabgesättigt	+	±	±	+	±	±	+	±	±	—	—	—
Abgesättigt mit verdünntem 1:5 Rinderserum	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit verdünntem 1:5 Hammelserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abgesättigt mit verdünntem 1:5 Ziegenserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

oder 3. Tage eingespritzt. Nach den veröffentlichten Tabellen zeigten von 10 Menschenantiseren 4 mit einem Titer von 50 000 keine Mitpräzipitation in Affenserum, während bei den übrigen 6 Antiseren der Titerunterschied zwischen Menschen- und Affeneiweiß immerhin noch so erheblich war, daß sich damit eine Differentialdiagnose zwischen Menschen- und Affeneiweiß ermöglichen ließ (1:20 000—50 000 für Mencheneiweiß gegenüber 1:1000—10 000 für Affeneiweiß). Bei 3 zur Kontrolle mit genuinem Menschenserum vorbehandelten Kaninchen betrug der Titer für das homologe Eiweiß Mensch 10 000, für Affeneiweiß 2mal 10 000, 1mal 1000.

Ueber die Verwendung gekochter Antigene zur Herstellung von Immunseren sind schon früher Untersuchungen vorgenommen worden. Durch Forssman (29) wissen wir, daß es gelingt, durch Vorbehandeln von Kaninchen mit den Organen des Meerschweinchens und gewisser anderer Tierarten Hammelbluthämolysine zu erzeugen. Die durch Meerschweinchenorganimmunisierung gewonnenen Antisera wirken nach Orudschiew (32) außer auf Hammelblut auch auf Ziegenblut, während Rinderblutkörperchen, wie das bereits Forssman angegeben hatte, durch dieselben nicht gelöst werden. Die Meerschweinchenorganantisera unterscheiden sich also von den Hammelblutimmunseren durch das Fehlen der hämolytischen Wirkung auf Rinderblut. Nach den Versuchen von Doerr und Pick (33) gelingt die Immunisierung in gleicher Weise auch nach vielstündigem Kochen der zur Erzeugung von Hammelblutambozeptoren brauchbaren Organe. Ebenso erweisen sich die gekochten Organe zu Bindungsversuchen geeignet: während nämlich die nativen Hammelblutkörperchen die Hammelblutambozeptoren sowohl der gewöhnlichen Hammelblutimmunsera, wie auch der Meerschweinchenorganantisera vollständig absättigen, binden gekochte Hammelblutkörperchen nur die Hammelblutambozeptoren der Organantisera. Daraus folgern Doerr und Pick, daß die gekochten Hammelblutkörperchen nur noch diejenigen Rezeptoren enthalten, welche das Hammelblut mit den Organen anderer Tierarten gemeinsam hat, während die für Hammelblut artspezifischen Rezeptoren durch Eiweiß koagulierende Einflüsse ihrer Funktion beraubt werden. Sachs und Nathan (34) haben dann durch Immunisierung mit gekochten Hammelblutkörperchen Antisera erzeugt, die in gleicher Weise auf Hammel- wie auf Ziegenblutkörperchen wirkten, dagegen für Rinder- und Pferdeerythrozyten unwirksam waren. Die durch Immunisierung mit gekochten Hammelblutkörperchen dargestellten

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Antisera verhalten sich also in dieser Hinsicht genau ebenso wie die Meerschweinchenorganantisera. Kudicke und Sachs (35) haben das Verhalten roher und gekochter Milch gegenüber dem homologen Serum im Komplementbindungsversuch untersucht und dabei gefunden, daß die durch Immunisierung mit roher Milch gewonnenen „Rohlaktosera“ auch mit Rinderserum mehr oder weniger deutlich reagieren, während die Antisera der gekochten Milch, „Coctolaktosera“, nur mit Milch, aber nicht mit Blutserum Komplementbindung bewirken. Die Präzipitationsversuche gaben gleichsinnige Resultate. Die durch Immunisieren mit roher Milch gewonnenen Rohlaktosera präzipitierten in Bestätigung der Angaben von Hamburger (36), Halban und Landsteiner (37), Schütze (38), Klein (39) und anderen Autoren Rinderserum mehr oder weniger stark, während die Coctolaktosera mit Rinderserum meist gar keine Reaktion ergaben, oder in Ausnahmefällen nur eine spät eintretende Präzipitatbildung bei starken Antigenkonzentrationen erkennen ließen. Im Zusammenhang hiermit sei auf die Untersuchungen von Weil und Felix (40), sowie von Weil, Felix und Mitzenmacher (41) hingewiesen, die durch Immunisierung mit auf 100° C erhitzten Bakterien von Typhuskulturen und Gärtner-Kulturen agglutinierende Sera herstellten, mit denen sich eine Differentialdiagnose zwischen diesen beiden eng verwandten Mikroorganismen erzielen ließ.

Die von mir mit kochkoaguliertem Antigen angestellten Versuche bestätigen, daß man nach dieser Methode verhältnismäßig leicht hochwertige Antisera herzustellen vermag; allerdings ist es nicht gelungen, so absolut artspezifische Antisera zu gewinnen, wie sie Fujiwara erhalten hat (siehe Tab. IV). Zunächst ging ich streng nach der

Tabelle IV.
Zusammenstellung mit kochkoaguliertem Serumeiweiß hergestellter präzipitierender Antisera.

Nr.	Antiserumart	Injektionsmaterial	Injektions-dosis	Wertigkeit
Nr. 178	Schweineantiserum	kochkoag. Schweineserumeiweiß	10 × 0,02 g	20 000 +
„ 685	dgl.	dgl.	„	20 000 +
„ 709	Pferdeantiserum	kochkoag. Pferdeserumeiweiß	8 × 0,02 g	20 000 +; Esel 20 000 +
„ 169	Rinderantiserum	kochkoag. Rinderserumeiweiß	8 × 0,02 g	20000 +; Hammel 1000 +, Ziege 1000 +
„ 693	dgl.	dgl.	„	20000 +; Hammel 10000 +; Ziege 1000 +
„ 694	dgl.	dgl.	„	20000 +; Hammel 10000 +; Ziege 10000 ±
„ 671	Menschenantiserum	kochkoag. Menschenserumeiweiß	6 × 0,5 g	20 000 +; Affen 20 000 +
„ 686	Pferdeantiserum	kochkoag. Pferdeserumeiweiß	4 × 1,0 g	20 000 +; Esel 20 000 +

Vorschrift des Autors vor und immunisierte die Versuchstiere mit häufigen Einspritzungen von geringen Mengen kochkoagulierten Serumeiweißes. Die Schweineantisera Nr. 178 und 685 sind auf diese Weise gewonnen: Die beiden Kaninchen erhielten 10mal in Zwischenräumen von 2 bis 3 Tagen 0,02 g kochkoaguliertes Schweineserumeiweiß intravenös injiziert und lieferten am 10. Tage nach der letzten Injektion Antisera, die einen homologen Titer von 20 000 + zeigten, mit allen geprüften

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

heterologen Eiweißlösungen aber (Hammel, Ziege, Rind, Pferd, Mensch) vollkommen negativ reagierten. Auf dieselbe Weise wurde ein Pferdeantiserum Nr. 709, hergestellt; nach 8 intravenösen Injektionen von je 0,02 g kochkoagulierten Pferdeserumeiweißes zeigte das Serum dieses Kaninchens bei der Probeentnahme einen Titer von 20 000 + mit Pferdeeiweiß. Die Erwartung, daß dieses Antiserum, entsprechend den Angaben von Fujiwara bei Menschenantiseren, keine oder mindestens eine wesentlich geringere Reaktion in Eseleiweißlösungen hervorrufen würde, bestätigte sich aber nicht, denn es zeigte mit Eselserum noch Fällungen bis zu der Antigenverdünnung von 1 : 20 000. In allen übrigen geprüften heterologen Eiweißlösungen war jedoch keine Reaktion wahrnehmbar.

Zur Klärung der Frage, ob es gelingt, mit Hilfe kochkoagulierten Antigens die Verwandtschaftsreaktionen bei Rinderantiseren zu vermeiden bzw. Antisera herzustellen, mit denen eine Differenzierung gegenüber Hammel- und Ziegeneiweiß möglich ist, wurden die Kaninchen Nr. 169, 693 und 694 mit 8 intravenösen Injektionen von 0,02 g kochkoagulierten Rinderserumeiweißes vorbehandelt. Das erzielte Antiserum von Kaninchen Nr. 169 zeigte bei der Austitrierung einen Titer von 20 000 +, während die Fällungen in den verwandten Eiweißlösungen von Hammel und Ziege nicht über die Verdünnungen 1 : 1000 hinausgingen. Das Rinderantiserum Nr. 693 zeigte einen Endtiter von 20 000 + gegenüber der homologen Eiweißlösung, hingegen reagierte es mit Hammeleiweißlösungen noch bis zu einer Verdünnung von 1 : 10 000, mit Ziegeneiweißlösungen bis 1 : 1000. Der Titer des Rinderantiserums Nr. 694 wies dieselben Zahlen auf, nur zeigte sich mit Ziegeneiweißlösungen auch noch in der Verdünnung 1 : 10 000 eine geringe Reaktion. Heterologe Trübungen traten bei allen 3 Antiseren nicht in Erscheinung. Von weiteren Versuchen in dieser Richtung wurde Abstand genommen, da diese Ergebnisse gegenüber den mit genuinem Rinderserum hergestellten Antiseren keine wesentliche Verbesserung darstellen.

Eine Bestätigung für die Angaben Fujiwaras, daß man durch Vermehrung der Injektionsdosis z. B. bis auf 0,5 g schon durch 5malige Einspritzungen hochwertige Antisera erzielen kann, ergab das Menschenantiserum Nr. 671, dessen Endtiter nach 6 intravenösen Injektionen von 0,5 g kochkoagulierten Menschenserumeiweißes 20 000 + betrug. Auch dieses Antiserum entsprach indes im übrigen nicht den Angaben Fujiwaras, denn es reagierte nicht nur mit Menscheneiweiß, sondern gab auch mit Affeneiweiß Präzipitationen bis zur Verdünnung 1 : 20 000. Im weiteren Verlaufe der Untersuchungen wurde mit der Injektionsmenge noch weiter heraufgegangen, und zwar gelang es schon mit 4 Injektionen von je ca. 1,0 g kochkoagulierten Eiweißes ein hochwertiges Antiserum von den Versuchstieren zu gewinnen. Das Kaninchen Nr. 686 wurde in Abständen von 5 Tagen mit 4 intravenösen Injektionen von 1,0 g kochkoagulierten Pferdeserumeiweißes in 5,0 NaCl-Lösung vorbehandelt und zeigte nach der Entblutung einen Titer von 20 000 +. Zur Kontrolle wurde ein Kaninchen, Nr. 688, an den gleichen Tagen in denselben Zwischenräumen mit je 2,0 ccm genuinen Pferdeserums gespritzt, dessen Serum nach Abschluß der Behandlung denselben Titer aufwies. Bei der Austitrierung dieser beiden Antisera gegenüber Eseleiweißlösungen ergab sich kein Unterschied; beide Antisera reagierten bis zu den gleichen Verdünnungen wie mit dem homologen Eiweiß Pferd.

Ich kann auf Grund meiner Versuche die Immuni-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sierung von Kaninchen mit kochkoaguliertem Eiweiß zwecks Gewinnung präzipitierender Antisera durchaus empfehlen. — Für die Verwendung derartigen kochkoagulierten Antigens spricht entschieden der Umstand, daß bei den auf diese Weise hergestellten Antiseren ein Uebergreifen auf heterologe Eiweißarten fast gar nicht beobachtet wurde. Bisher befand sich unter den mit kochkoaguliertem Eiweiß hergestellten Antiseren kein einziges, das wegen Mitpräzipitation in heterologen Eiweißlösungen sich nicht zur Abgabe an andere Dienststellen geeignet hätte und ausgeschieden werden mußte. Einen weiteren Vorteil der Methode muß man mit Fujiwara auch darin erblicken, daß man der Sorge um jederzeit frische und wirksame Antigene zur Injektion, wie sie nach den Erfahrungen von Manteufel und Beger zur Gewinnung hochwertiger und spezifischer Antisera erwünscht sind (in der heutigen Zeit eine schwer durchführbare Maßnahme) enthoben ist, da man leicht in der Lage ist, sich eine größere Menge Antigen herzustellen, das unter Toluol anscheinend unbeschränkte Zeit haltbar ist. Bei der Einspritzung selbst muß man sich hüten, gröbere Partikelchen, die leicht beim schlechten Verreiben des kochkoagulierten Eiweißes zurückbleiben können, zu injizieren, da man sonst Todesfälle durch Gefäßembolie erlebt. Auch empfiehlt es sich, wie bereits Fujiwara angibt, die Ohrvene nach der Injektion kardialwärts auszustreichen und so eine mechanische Entfernung an der Gefäßwand hängenbleibender Eiweißpartikelchen zu bewirken. Trotz dieser Vorsichtsmaßregel verstopfen sich öfters die Ohrvenen durch Gefäßthrombosierungen, so daß man bei häufigen Einspritzungen Schwierigkeiten begegnet. Was schließlich die Präzipitinreaktion selbst anlangt, die mit solchen Antiseren angestellt wird, so erscheint das Volumen des Präzipitats geringer als bei einem hochwertigen Antiserum, das mit genuinem Eiweiß hergestellt ist, doch zeichnet sich der Reaktionsring sehr scharf ab und erscheint zwar mehr strichförmig, aber deshalb nicht weniger deutlich.

Zusammenfassung.

1) Die Beseitigung der heterologen Trübungen bei präzipitierenden Antiseren mit dem von Friedberger und Meißner angegebenen Absättigungsverfahren

a) mit gekochten ungewaschenen Blutkörperchen ist mir überhaupt nicht gelungen;

b) mit nativen ungewaschenen Blutkörperchen hat andererseits Nachteile, so daß die praktische Brauchbarkeit in Frage gestellt scheint.

2) Die Verwandtschaftsdifferenzierung nach dem von Fürth angegebenen Absättigungsverfahren hat sich mir nicht bewährt.

3) Die Immunisierung von Kaninchen mit kochkoaguliertem Serumeiweiß nach Fujiwara zur Erzielung nicht übergreifender präzipitierender Antisera hat sich bewährt.

Eine Verwandtschaftsdifferenzierung bei nahe verwandten Arten mit diesem Verfahren ist mir jedoch nicht gelungen. Die Herstellung des Antigens ist einfach, das Antigen anscheinend unbegrenzt haltbar.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Literaturverzeichnis.

1) Uhlenhuth, Dtsch. med. Wochenschr. 1902. S. 659—662 u. 679—681; Ders. u. Beumer, Ztschr. f. Medizinalbeamte. 1903. Nr. 5/6; Ders. u. Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. Jena 1909. S. 220. — 2) Manteufel u. Beger, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 33. 1921. S. 348—374. — 3) Friedberger u. Meißner, ebenda. Bd. 36. 1923. S. 233 bis 271; Klin. Wochenschr. Bd. 1. 1922. S. 1248—1250. — 4) Meißner, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 36. 1923. S. 272—287. — 5) Ascoli, Münchn. med. Wochenschr. 1902. S. 1409—1413. — 6) Obermayer u. Piche, Wien. klin. Rundsch. 1902. Nr. 15. — 7) Rostosky, Münchn. med. Wochenschr. 1902. S. 740. — 8) Huber, Berlin. klin. Wochenschr. 1902. S. 657—659. — 9) Michaelis u. Oppenheimer, Arch. f. Anat. u. Phys. 1902. Supplementh. S. 336—366. — 10) Michaelis, Dtsch. med. Wochenschr. 1902. S. 733—736. — 11) Landsteiner u. Calvo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1902. S. 781—786. — 12) Fuhrmann, Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. 1903. S. 417—432. — 13) Michaelis, Dtsch. med. Wochenschrift. 1904. S. 1240 u. 1241. — 14) Bertarelli, Riv. d'Ig. 1904. Nr. 20; Autoref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904. S. 358 u. 359. — 15) Obermayer u. Pick, Wien. klin. Wochenschr. 1904. S. 265—267; ebenda. 1906. S. 327—334. — 16) Kister u. Weichardt, Ztschr. f. Medizinalbeamte. 1902. S. 729—735. — 17) Weichardt, Münch. med. Wochenschr. 1903. S. 1077; Hyg. Rundsch. Bd. 13. 1903. S. 755—759; Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. III. Folge. Bd. 29. 1905. S. 19 bis 27; Hyg. Rundsch. Bd. 13. 1903. S. 491—495. — 18) Liepmann, Dtsch. med. Wochenschr. 1903. S. 383—385. — 19) Mertens, ebenda. 1904. S. 203 u. 204. — 20) Maragliano, Berlin. klin. Wochenschr. 1904. S. 724—726. — 21) Forssner, Münch. med. Wochenschr. 1905. S. 892—895. — 22) Grund, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 87. 1906. S. 148—177. — 23) Strube, Dtsch. med. Wochenschr. 1902. S. 425—429. — 24) Pfeiffer, H., Wien. klin. Wochenschr. 1905. S. 637—641. — 25) Hektoen u. Manly, Journ. Infect. Dis. Vol. 32. 1923. p. 167—171. — 26) Ders. u. Schulhof, ibid. Vol. 33. 1923. p. 224—229. — 27) Friedberger u. Collier, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 28. 1919. S. 237—245. — 28) Ders. u. Jarre, ebenda. Bd. 30. 1920. S. 351—372. — 29) Forssman, Biochem. Ztschr. Bd. 37. 1911. S. 78 bis 115. — 30) Fürth, Arch. f. Hyg. Bd. 92. 1923. S. 158—168. — 31) Fujiwara, Dtsch. Ztschr. f. d. ges. gerichtl. Med. Bd. 1. 1922. S. 562—565. — 32) Orudschiew, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 16. 1913. S. 268—388. — 33) Doerr u. Pick, Biochem. Ztschr. Bd. 50. 1913. S. 129—161. — 34) Sachs u. Nathan, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 19. 1913. S. 235—250. — 35) Kudicke u. Sachs, ebenda. Bd. 20. 1914. S. 316—335. — 36) Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1901. S. 1202—1204. — 37) Halban u. Landsteiner, Münchn. med. Wochenschr. 1902. S. 473—476. — 38) Schütze, Ztschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901. S. 5—8. — 39) Klein, Folia microbiol. 1912. S. 1 u. 2. — 40) Weil u. Felix, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 29. 1920. S. 24; Wien. klin. Wochenschr. 1918. S. 986. — 41) Dies. u. Mitzenmacher, ebenda. 1918. S. 1226. — 42) Hecktoen, Journ. of Americ. med. Assoc. Vol. 78. 1922. p. 704 and 705.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Normalisierung der Blutaufschwemmung für Komplementbindung und zur Wa.-Reaktion.

[Aus dem Reichsgesundheitsamte, Zweigstätte Scharnhorststraße, frühere Kaiser Wilhelms-Akademie.]

Von **F. Konrich.**

Für die Herstellung einer stets gleichmäßig dichten Aufschwemmung gewaschener Erythrozyten für die Komplementbindung sind erst kürzlich 2 Verfahren angegeben worden. Man hat diese Reaktion viele Jahre lang benutzt, ohne nach der Standardisierung der Blutemulsion stärkeres Verlangen zu haben. Das ist durchaus erklärlich, da ja das veränderliche Gefüge: Blutaufschwemmung — hämolytischer Ambozeptor — Komplement jeweils für 1 Tag festgelegt wird, was dem praktischen Bedürfnis genügt. Man wird es aber trotzdem für nützlich halten müssen,

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wenn die Blutemulsion einfach und sicher stets gleichmäßig dicht hergestellt werden kann, um so mehr, als die Wassermannsche Reaktion seit Jahren bei uns wenigstens nach behördlicher Vorschrift und größtenteils mit staatlich geprüften Extrakten und Ambozeptoren ausgeführt wird. Je gleichförmiger alle Einzelstoffe bei der Reaktion sind, um so besser werden die Ergebnisse sich vergleichen lassen.

Das 1. Verfahren zur Standardisierung der Blutemulsion stammt von Reichert[1]). Es beruht auf kolorimetrischer Grundlage, ähnlich wie die klinischen Hämoglobinometer. Man stellt sich Teströhrchen her, die so viel Hämoglobin enthalten, wie im Wassermannschen Versuch üblich ist, und verwandelt es in salzsaures Hämatin. Von dem Bodensatz der gewaschenen Erythrozyten stellt man sich jeweils mittels destill. Wassers und Salzsäure Verdünnungen von gleicher Farbe her und kann aus dem Verbrauch an H_2O und HCl dann berechnen, wie weit man den Blutkörperchenbodensatz mit physiol. Kochsalzlösung verdünnen muß.

Das andere Verfahren, von mir angegeben und von Willerding[2]) beschrieben, geht von der Ueberlegung aus, daß im gesunden Hammel die Zahl der roten Blutscheiben und ihr Hämoglobingehalt immer gleich ist und daß die Hälfte des Blutes aus Erythrozyten besteht. Um hierauf fußend, beispielsweise 100 ccm einer immer gleich dichten 5-proz. Blutaufschwemmung herzustellen, wäscht man 10 ccm defibrinierten Blutes, nimmt den ganzen Bodensatz — das sind rund 5 ccm Erythrozyten — in NaCl-Lösung auf und bringt damit auch die ganze Flüssigkeitsmenge auf 100 ccm. Das Verfahren verlangt also nur je eine Messung der gewaschenen Erythrozyten und der Kochsalzlösung, genau wie bei der allgemein üblichen Methode. Bei dem Reichertschen Verfahren bedingt dagegen schon die Herstellung des Proberöhrchens mehrere Messungen, dann muß man etwa $^3/_4$ Std. warten und meistens die Zusammensetzung des Proberöhrchens ändern, da es nachdunkelt. Dann erst kann man nach erfolgter Rechnung die beiden Messungen vornehmen, nach denen man sich die Gebrauchsaufschwemmung des Blutes herstellt. Das Verfahren kostet also mehr Zeit und ist weniger einfach. Das würde keine Rolle spielen dürfen, wenn es genauer wäre als das hier benutzte. Im folgenden seien Vergleichsuntersuchungen über die Frage mitgeteilt, welche von beiden Methoden zuverlässiger ist.

Zunächst stellte sich heraus, daß in den gleich nach der Herstellung zugeschmolzenen Teströhrchen für das Verfahren R. nach einigen Tagen sich ein Bodensatz bildete, und die darüber stehende Flüssigkeit heller wurde. Der Niederschlag ließ sich zwar durch Schütteln stets leicht wieder verteilen, dann sah aber die Flüssigkeit immer etwas trübe aus, während die frisch hergestellten Vergleichsröhrchen völlig klar waren. Dadurch wird der Farbenvergleich erschwert. Für das Teströhrchen benutzten wir 0,1 ccm des Blutkörperchenbodensatzes. Dabei zeigte sich, daß der braune Farbton in gewissem Grade von der Menge der Salzsäure abhängt, wie folgender Versuch zeigt:

Es werden je 0,1 vom Blutzentrifugat in je 2,0 ccm dest. Wasser hämolysiert. Nun fügt man 2-proz. Salzsäure hinzu, und zwar 0,1, 0,2 usf. Zuletzt wird mit destill. Wasser in allen Röhrchen das gleiche Volumen hergestellt, hierauf die Reihe in Unordnung gebracht und nun nach der Farbe neu geordnet. (Links hellste, rechts dunkelste Farbe. Ziffern bedeuten Gehalt an HCl.)

0,1 0,2 0,9 0,3 0,7 0,4 0,5 0,6 0,8.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87.
2) Ebenda Bd. 88.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wiederholte Versuch ergaben stets das gleiche Bild: bei wenig und bei viel Salzsäure ist die Farbe heller als bei mittlerem Säuregehalt. Die Unterschiede waren aber bei diesen letzteren Röhrchen so klein, daß mehrere Untersucher die Röhrchen von 0,2—0,8 ccm Säure niemals in annähernd gleiche Reihe brachten. Hieraus zogen wir uns die Lehre, zu 0,1 vom Blutkörperchenbodensatz — bei weniger leidet die Genauigkeit der Messung, mehr ist zwecklos — eine feststehende Menge von 0,3 ccm der 2-proz. Salzsäure zuzusetzen. Das ist die Mindestmenge, mit der man schon eine maximale Braunfärbung der verwendeten Hämoglobinmenge erzielt.

Nun wurde versucht, festzustellen, bis zu welcher Genauigkeit der Farbvergleich in Versuchen geht, die der praktischen Handhabung des Reichertschen Verfahrens entsprechen. In gleich weite Röhrchen kommen: 0,1 ccm Blutkörperchenbodensatz, 2,0 ccm dest. Wasser, 0,3 ccm 2-proz. Salzsäure. In das 1. Röhrchen kommen weiterhin 10 ccm dest. Wasser, in das 2. 10,5 ccm usf., bis 14,0 ccm. Die Röhrchen werden willkürlich vertauscht und hierauf nach der Farbe geordnet. (Links hellste, rechts dunkelste Farbe, Ziffern bedeuten die Menge H_2O.)

Wirkliche Reihe	10,0	10,5	11.0	11,5	12,0	12,5	13,0	13,5	14,0
Gefundene „	10,01	10,07	11,33	11,77	12,33	12,39	12,72	13,33	13,55

Die gefundenen Werte sind der Durchschnitt aus je 3 Versuchen dreier Personen. Weitere Versuche bestätigten dies Ergebnis. Bei Einzelversuchen fanden sich stärkere Abweichungen, doch waren sie selten größer als 2,0. Das ist der bei kolorimetrischen Methoden übliche hohe Genauigkeitsgrad. Von dem Michaelisschen Komparator, den auch Reichert empfiehlt, haben wir keinen nennenswerten Vorteil gesehen und ihn daher bald fortgelassen.

Wir haben nun in größeren Reihen von Versuchen eine 5-proz. Blutaufschwemmung nach Reichert und nach unserem Verfahren hergestellt, und jedesmal die Zahl der roten Blutkörperchen gezählt. Dabei wurde beobachtet, daß es nötig ist, die Blutaufschwemmung ganz besonders sorgfältig zu mischen, wenn man sie mit den üblichen, beim serologischen Arbeiten benutzten Pipetten herstellt. Sonst sind die Ergebnisse sehr ungleich. Das Blut stammte stets von dem gleichen Hammel. Ein derartiger Versuch möge Platz finden; die übrigen verliefen nicht nennenswert anders.

Erythrozytenzahl in ccm

Verfahren R.	1,05	1,05	1,00	1,06	1,01
„ K.	1,07	1,18	1,13	1,08	1,01

Die Blutkörperchenzahl nach unserem Verfahren entsprach naturgemäß einem Zehntel der Dichte im strömenden Blute, da ja 10 ccm Blut mit physiologischer Kochsalzlösung auf 100 ccm aufgefüllt werden, nachdem das Serum entfernt ist.

Dabei ist nicht die Möglichkeit berücksichtigt, daß der Gehalt der Erythrozyten an Hämoglobin verschieden sein kann. Man darf aber diesen Punkt wohl unbedenklich vernachlässigen, da wir es ja mit gesunden Tieren zu tun haben.

Wie aus diesen Versuchen sich ergibt, führen beide Verfahren praktisch zu gleich dichten Blutaufschwemmungen, sind also als leistungsgleich anzusehen. Verschieden sind sie nur hinsichtlich Schnelligkeit und Einfachheit, die bei unserer Methode größer ist, so daß sie aus diesem Grunde den Vorzug verdient. Will man gleichwohl das kolorimetrische Verfahren benutzen, so würde man es zweckmäßigerweise

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dadurch vereinfachen, daß man den Umweg der Ueberführung des Hämoglobins in salzsaures Hämatin vermeidet und statt dessen unmittelbar das mit dest. Wasser gelöste Hämoglobin nach dem Prinzip der klinischen Hämoglobinometer vergleicht. Diese selbst sind dazu allerdings nicht zu gebrauchen, da ihre Skala unterhalb 10 Proz. aufhört und wir es bei unseren Blutaufschwemmungen mit etwas schwächerem als 10-proz. Hämoglobin zu tun haben. Man könnte sich aber leicht Teströhrchen mit einer unveränderlichen roten Farbe herstellen. Dadurch würde man immerhin Zeit sparen, weil man auf das Nachdunkeln nicht mehr zu warten brauchte, aber einen Vorteil böte die Methode vor der im hiesigen Laboratorium benutzten auch dann nicht.

Nachdruck verboten.

Ein Lampenagglutinoskop.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Bakteriologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamts.]

Von Prof. Dr. **E. Gildemeister** und Dr. **Kurt Herzberg.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die Beobachtung von Bakterienagglutinationen erfolgt bekanntlich in der Weise, daß das die agglutinierten Bakterien enthaltende Reagenzglas schräg gehalten und sein Inhalt bei durchfallendem Lichte entweder mit unbewaffnetem Auge oder unter Zuhilfenahme einer schwach vergrößernden Lupe betrachtet wird. Um das Ablesen der Agglutination sicherer zu gestalten und Vergleiche zwischen mehreren Röhrchen zu ermöglichen, sind im Laufe der Zeit verschiedene Apparaturen konstruiert worden, von denen das Agglutinoskop nach Kuhn und Woithe das bekannteste und bewährteste sein dürfte. Eine Modifikation dieses Apparates stellt das von Korach neuerdings angegebene Polyagglutinoskop dar.

Als Lichtquelle wird für die Beobachtung der Agglutination entweder Tageslicht oder eine künstliche Beleuchtung benutzt. Das Tageslicht hat den großen Nachteil, daß es erheblichen Schwankungen ausgesetzt ist, je nachdem klares oder trübes Wetter herrscht. Derartige Schwankungen in der Intensität des Tageslichtes können besonders bei vergleichenden Untersuchungen störend wirken. Die Ergebnisse werden bei klarem Wetter bessere sein, d. h. feinste Agglutinationen werden eher erkannt werden als bei trübem, nebligem Novemberwetter. Das gilt sowohl für die Beobachtung mit unbewaffnetem Auge wie für die Lupenbetrachtung. Auch die Verwendung einer künstlichen Lichtquelle verbürgt — wenigstens unter den bisher üblichen Versuchsbedingungen — keine gleichmäßigen Beobachtungen, selbst nicht bei Verwendung des Agglutinoskops nach Kuhn und Woithe, da Einfall des Lichtes in den Apparat und Stellung des Apparates zur Lichtquelle nicht immer mit der gleichen Genauigkeit möglich sein werden.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß eine gleichmäßige Beurteilung von Agglutinationsproben nur unter gleichen Beobachtungsbedingungen erzielt werden kann. Dazu wäre eine Apparatur erforderlich, die mit einer bestimmten Lichtquelle eine Einheit bildet. Diese Forderung glauben wir mit einem von uns konstruierten kleinen Apparat, der in

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verbindung mit der von Falkenthal angegebenen Dunkelfeldlampe zu verwenden ist, erfüllt zu haben.

Die Falkenthalsche Dunkelfeldlampe (s. Fig. 1), deren Besonderheiten und Vorzüge hier zunächst kurz angeführt seien, verwendet eine Glühlampe, bei der der gesamte Glühdraht zu einer nur wenige Millimeter messenden Spirale zusammengerollt ist. Infolge dieser Zusammendrängung des lichtspendenden Glühfadens erreicht man mit ganz kleinen Energien von ca. 40 Kerzen im Mikroskop den gleichen Effekt wie mit kleinen Bogenlampen oder den hochwertigen, großen Starkstromglühlampen, deren Stromverbrauch 5—10mal so groß ist. Da Glühlampen mit derartig eng zusammengerollten kurzen und dicken Fäden zweckmäßig für ganz kleine Spannungen von 2—12 Volt hergestellt werden, besitzt die Lampe, um ihren Anschluß auch an Starkstromnetze zu ermöglichen, einen Spannungstransformator, der in das Lampengehäuse eingebaut ist. Dieser wandelt, wenn Wechselstrom vorhanden ist, die Netzspannung von beispielsweise 220 Volt praktisch ohne Verluste in die eigentliche Lampenspannung von 12 Volt um. Falls die Lampe an Gleichstrom angeschlossen werden soll, erfolgt die Umwandlung der Netzspannung in die Lampenspannung durch Einschaltung eines Widerstandes, wobei allerdings der Vorteil der Stromersparnis verloren geht.

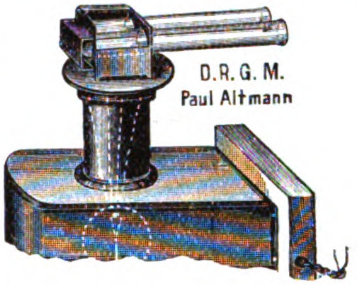


Fig. 2.

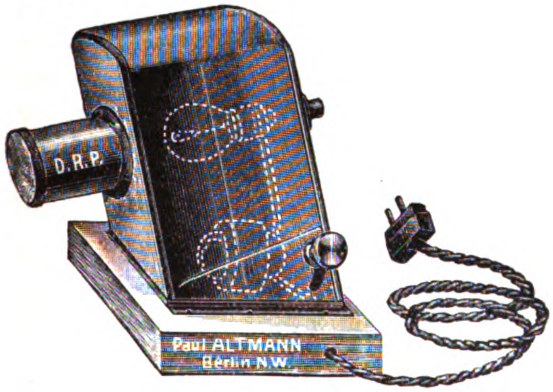


Fig. 1.

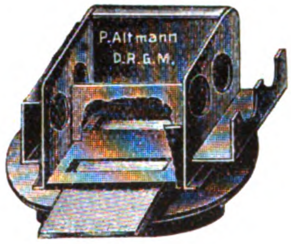


Fig. 3.

Die Falkenthal-Lampe, die in unserem Laboratorium seit mehr als 3 Jahren im Gebrauch ist und sich bestens bewährt hat, eignet sich nicht nur für Dunkelfeld-, sondern auch ebenso gut für Hellfelduntersuchungen und kann gleichfalls für mikrophotographische Aufnahmen Verwendung finden. Ferner kann der verhältnismäßig kleine, aber äußerst wirksame Lichtkegel der Falkenthal-Lampe, wie uns die Erfahrung gezeigt hat, ausgezeichnet zur Durchmusterung von Agarplattenoberflächenausstrichen benutzt werden. Die einzelnen Kolonien treten in dem Lichtkegel der Lampe so deutlich in die Erscheinung, daß feinere Strukturen, insbesondere Variantenbildungen, mühelos zu erkennen sind. Auch zur Auszählung von d'Herelle-Lysinteilchen nach unserer Tropfenplattenmethode bedienen wir uns mit Vorteil des Lichtkegels der Lampe.

Die Vorzüge der Falkenthal-Lampe sind — kurz zusammengefaßt — folgende:

1) Sehr geringer Stromverbrauch bei Vorhandensein von Wechselstrom; er ist in diesem Falle nicht größer als der einer gewöhnlichen Zimmerlampe. Die Unkosten für Stromverbrauch sind also wesentlich geringer als bei jeder anderen Mikroskopierlampe.

2) Die Lampe arbeitet geruch- und geräuschlos und erfordert keine Nachregulierung.

3) Das Licht ähnelt sehr dem der Bogenlampe. Die Lichtintensität steht der der Bogenlampe nur wenig nach.

4) Die Lampe ist sehr stabil; insbesondere ist die Glühbirne infolge der Dicke des Fadens sehr lange haltbar im Gegensatz zu den Glühbirnen für hohe Spannungen.

Es lag nun nahe, den scharfen Lichtkegel der Falkenthal-Lampe zur Beobachtung noch anderer Dinge heranzuziehen. Als geeignetes Objekt erschien uns die Bakterienagglutination. In der Tat ließ sich zeigen, daß sie in dem Lichte dieser Lampe unter gewissen Bedingungen leicht und sicher zu erkennen ist. Aus diesen Versuchen ist alsdann

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

die kleine Apparatur (s. Fig. 3) entstanden, deren Beschreibung wir nachstehend geben.

Zur Beobachtung der Bakterienagglutination wird die Falkenthal-Lampe auf den Rücken gestellt, so daß der Lichtkegel senkrecht nach oben fällt. Auf den fernrohrartigen Fortsatz der Lampe wird ein kleiner Aufsatz gestellt, an dessen Boden zwei schmale Ausschnitte von bestimmter Länge und Breite sich befinden, durch die das durch eine Linse konzentrierte Licht der Lampe fällt. Die Bodenplatte trägt ein nach allen Seiten außer nach oben geschlossenes Gehäuse, dessen linke und rechte Wand Einrichtungen zum Durchstecken und Halten von 2 Reagenzgläsern besitzen. Die Lage der Reagenzgläser in dem Apparate ist leicht schräg geneigt. Ueber die beiden Schlitze der Bodenplatte wird eine Mattscheibe von bestimmter Intensität gelegt, da es sich herausstellte, daß die Verwendung des vollen Lampenlichtes nicht möglich ist, weil in diesem Falle auch in völlig klaren Serumverdünnungen leichte Körnelungen zu erkennen sind, die feinste Agglutinationen vortäuschen können. Die Beobachtung der Agglutination in unserem Apparate (siehe Fig. 2), der handbreit unter Augenhöhe zu stehen hat, erfolgt zunächst mit unbewaffnetem Auge, indem man von schräg oben nach unten in den Apparat und auf den Röhrcheninhalt sieht. Stärkere Agglutinationen sind auf diese Weise mühelos zu erkennen. Bei schwächeren Agglutinationen ist Lupenbetrachtung erforderlich. Vergleiche sind zwischen zwei Röhrchen ohne weiteres möglich. Unser Agglutinoskop gestattet also das, was wir eingangs als wünschenswertes Ziel bezeichnet haben, nämlich Beobachtung der Bakterienagglutination unter stets gleichen Lichtverhältnissen.

Außer für Bakterienagglutination eignet sich der kleine Apparat auch zum Ablesen von Flockungsreaktionen für die Syphilisdiagnose. Wie bei der Bakterienagglutination kommen auch hier die gleichen Lichtverhältnisse vorteilhaft zur Geltung.

Voraussetzung für die Verwendbarkeit des Agglutinoskops ist natürlich das Vorhandensein einer Falkenthal-Lampe, auf deren mannigfache Vorzüge, insbesondere den der großen Haltbarkeit und der geringen Betriebskosten, wir oben eingehend hingewiesen haben. Unser Agglutinoskop, dem wir den Namen „Lampenagglutinoskop“ gegeben haben, ist ebenso wie die Falkenthal-Lampe bei der Firma Paul Altmann in Berlin NW 6, Luisenstr. 47, erhältlich.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bestimmung der p_H-Werte in der bakteriologischen Technik.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. (Vorstand: Prof. v. Gonzenbach.)]

Von **Oskar Acklin.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die grundlegenden Anschauungen von van t'Hoff und Arrhenius über die elektrolytische Dissoziation wässeriger Lösungen haben in der experimentell biologischen Forschung relativ rasche und fruchtbare Anwendung gefunden. Dies gilt vor allem für das biochemische Arbeits-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gebiet, wo von den physikalisch-chemischen Arbeitsmethoden im Verlauf der letzten beiden Dezennien besonders ausgiebig Gebrauch gemacht wurde. Insbesondere wurde hier zur Messung der Säure- und Alkaliwirkung eine derartige Methode übernommen, die mit großer Genauigkeit und entsprechenden Erfolgen angewendet wird. Die Berücksichtigung und die genaue Bestimmung der sog. p_H-Werte ist daher heute, auch bei den einfachsten biochemischen Prozessen, zu einem Faktor von ausschlaggebender Bedeutung geworden.

Ein flüchtiger Blick in die einschlägige Literatur der verschiedenen Arbeitsgebiete dürfte das Gesagte bestätigen. Ganz besonders zeigt dies aber die Literatur über die Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels, diejenige über die sog. Gärungsphysiologie und Enzymforschung und neuerdings auch über die serologische Forschung. Sehr spärlich dagegen ist die entsprechende Literatur aus der Bakteriologie vertreten.

Es gibt allerdings auch hier recht umfangreiche Arbeiten. Sie sind aber beinahe ausschließlich amerikanischen Ursprungs, und erst die Nachkriegsperiode hat vereinzelt solche aus dem deutschen Sprachgebiet geliefert. Eine allseitige Berücksichtigung der physiko-chemischen Methoden, insbesondere der p_H-Werte, dürfte in der bakteriologischen Technik auf deutschem Sprachgebiet, wohl auch auf französischem [1]), bis heute nicht vorliegen [2]), im Gegensatz zu den anderen Disziplinen auf dem Gebiete biochemischer Forschung, und vor allem im Gegensatz zur bakteriologischen Technik in Amerika [3]).

Es könnte interessant sein, die Ursachen dieses Sachverhaltes kennen zu lernen. Ich halte es jedoch vorerst für zweckmäßiger, nach den Methoden zu fragen, welche uns zur Bestimmung der p_H-Werte überhaupt zur Verfügung stehen. Es sind dies:

1) die elektrometrische Methode,
2) die Indikatorenmethode.

---

1) Abt, G., La mesure de la réaction (p. 4) par la méthode colorimetrique dans les melieux de culture et les milieux biologiques, beschreibt die Sörensen-Clarksche Methode in der Revue d'Hygiène. T. 45. p. 1. Paris, Mossau 1923.

2) Abel, R., Bakteriologisches Taschenbuch. Leipzig (Kurt Kbbitzsch). Die wichtigsten Vorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. Können als eine der verbreitetsten Sammlung über bakteriologische Technik gelten. Das Büchlein erscheint jedes Jahr in neuer Auflage oder im Neudruck. In der 25. Auflage (1922) wird zur Einstellung der Reaktion der Nährsubstrate die Tüpfelmethode auf Lackmuspapier verwendet (siehe S. 10) oder dann die Neutralisation mit Phenolphthalein als Indikator unter nachheriger Zugabe von Säure oder Alkali auf das Gesamtvolumen des Nährsubstrates berechnet. Da aber diese auf den Lackmusneutralpunkt eingestellt werden sollen, wird nach eingetretener Phenolphthaleinneutralität ein Zusatz von Säure bis zu 2,5 Proz. als geeignet vorgeschrieben (siehe S. 14).

Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie, unter besonderer Berücksichtigung der Untersuchungsmethoden, Diagnostik und Immunitätslehre, Stuttgart (Ferd. Enke). Ein umfangreiches und zuverlässiges Buch, das ebenfalls starke Verbreitung gefunden hat, bringt in seiner 5. Auflage (1918) prinzipiell nichts Neues, sondern die Methode bei Abel wird entsprechend ausführlicher und genauer beschrieben. Die 6. und 7. Auflage (1922) dagegen enthält in einem kurzen Abschnitt „Die Wasserstoffionenkonzentration" das Allernötigste hierüber ausgeführt. Außerdem sind einige diesbezügliche Literaturangaben vorhanden. Auf die technische Seite der Frage wird nur andeutungsweise eingetreten und im übrigen auf die Michaelissche Darstellung der p_H-Bestimmung mit Indikatoren in der Dtsch. med. Wochenschr. (1921) verwiesen, so daß praktisch die bisherigen Methoden Anwendung finden.

3) Man beachte daraufhin die Arbeiten im Journ. of Bact., Journ. of exp. Med., Journ. of Infect. Dis. u. a., insbesondere auch die aus dem Rockefeller-Institut stammenden Arbeiten, welche häufig Abdrücke aus anderen Zeitschriften sind und in den Studies from the Rockefeller-Institute for Medical Research veröffentlicht werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die elektrometrische Methode. Sie kann leider für die bakteriologische Laboratoriumstechnik nur insofern in Betracht kommen, als sie zur Standardisierung der Indikatorenmethode dient. Die Gründe dafür liegen offensichtlich darin, daß ihre Anwendung, besonders bei Serienuntersuchungen erhebliche Ansprüche an die technische Leistungsfähigkeit des Laboratoriums stellen, ganz abgesehen davon, daß bei Serienuntersuchungen, wo äußerst rasches Arbeiten Bedingung werden kann, es sich mit dieser Methode zu langsam arbeiten läßt. Ich begnüge mich daher hier mit dem Verweis auf die entsprechende Literatur und glaube hiervon nach meinen Erfahrungen besonders zwei Praktika für die bakteriologische Laboratoriumsarbeit empfehlen zu können [1]).

Die Indikatorenmethode. Die von Sörensen 1909 in seinen Enzymstudien [2]) erstmals bekannt gegebene und in verschiedenen Arbeiten von Michaelis übernommene, weiter bearbeitete und, was die Indikatoren betrifft, verbesserte Methode zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration mit Indikatoren ist zweifellos zum Teil heute noch, besonders im deutschen Sprachgebiet, die einzige Methode, welche in der bakteriologischen Technik Anwendung gefunden hat.

Ich habe mich seinerzeit ebenfalls dieser Methode bedient, und zwar nach den Angaben von Sörensen [3]) und zum Teil nach denen von Michaelis [4]). Dabei hatte ich vorwiegend mit zum Teil stark und verschieden gefärbten Nährlösungen zu arbeiten, wozu noch starke Trübungen kamen. Ebenso waren die Nährsubstrate häufig stark eiweiß- und salzhaltig. Es war nötig, darin die Veränderungen der p_H-Werte in ganz kurzen Intervallen zu bestimmen, so daß die Inkubierung keinen Unterbrechung erleiden durfte. Die Indikatoren mußten demnach den betreffenden Gärversuchen von Anfang an beigegeben und mitbebrütet werden. Auch die festen Nährsubstrate, wie Agar und Gelatine, wurden auf die notwendigen p_H-Werte einzustellen versucht.

Leider mußte ich feststellen, daß der Methode, speziell aber den Indikatoren, zum Teil solche Mängel anhaften, welche die Bestimmungen öfter nur ungenau, in einzelnen Fällen überhaupt nicht ausführen ließen. Ganz kurz mögen hier die Unzulänglichkeiten und Fehler, die ich als besonders schwerwiegend empfand, angeführt sein [5]).

---

1) Clark, W. M., The Determination of Hydrogen Ions. 2. edit. Baltimore (Williams & Wilkins Co.) 1922. In der 2. Hälfte dieses 480 SS. starken ausgezeichneten Buches wird die elektrometrische Methode sowohl theoretisch als vor allem aber praktisch für die bakteriologischen Verhältnisse ebenso eingehend als umfassend und klar behandelt. Ebenso ist die gesamte Literatur sorgfältig nachgeführt.

Michaelis, L., Praktikum der physikalischen Chemie, insbesondere der Kolloidchemie, für Mediziner und Biologen. Berlin (Springer) 1921. In diesem teilweise nicht minder brauchbaren, ausschließlich praktisch gehaltenen kleinen Werk wird im 14. Kapitel, Messungen elektromotorischer Kräfte, besonders in den Uebungen 67—70 die elektrometrische Methode behandelt. Außer diesem Kapitel enthält das Praktikum noch eine Reihe Darstellungen von physiko-chemischen Methoden, die zweifellos die bakteriologische Technik nur vorteilhaft bereichern dürften.

2) Sörensen, S. P. L., Enzymstudien. II. Ueber die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen. Biochem. Ztschr. Bd. 21. 1909. S. 131. 201.

3) Sörensen, S. P. L., Ueber die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei biologischen Prozessen. Erg. d. Physiol. Bd. 12. 1912. S. 393.

4) Michaelis, Praktikum l. c. S. 24 ff.

5) Ich verzichte hier grundsätzlich auf jede theoretische Erörterung, in der Meinung, daß solche nicht in den Rahmen dieser technischen Mitteilung gehört, und daß theoretische Erörterungen über die einschlägigen Fragen in den beiden Büchern von L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration. Teil I. 1922, und W. M. Clark, Determination of Hydrogen Ions. 2. ed. 1922, nachgelesen werden können.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Apparatur. Die „Batterie" von 6—7 Titrierapparaten als Aufbewahrungsgefäße der verschiedenen Stammlösungen samt den Trockentürmen kommen heute im Preise sehr hoch zu stehen, da Präzisionsbüretten unumgänglich sind. Die „Batterie" selbst braucht zu ihrer Aufstellung und Benutzung relativ viel und einen lichtreichen Platz, der auch heute noch in vielen Laboratorien mangeln dürfte.

Stammlösungen. Diese waren zum Teil bereits nach 2 Monaten deutlich zersetzt, wofür neben anderen Faktoren Schimmelpilze verantwortlich gemacht werden mußten (M/15-Lösungen!).

Anwendung der Methode. Die für jede Bestimmung notwendige besondere Herstellung der geeigneten Pufferlösung und ebenso die vorausgehende umständliche Auswahl der passenden Indikatoren hindern ein rasches Arbeiten.

Indikatoren. Ich halte dafür, daß die Indikatoren zur Hauptsache für die Unzulänglichkeiten und Fehlerquellen der Methode verantwortlich gemacht werden müssen. Ganz abgesehen von der beinahe für jeden Indikator verschiedenen Herstellungsvorschrift und den ebenso variierenden Konzentrationen, in welchen die Indikatoren zu gebrauchen sind, hemmt deren unübersichtliche Anzahl (20 Stück!) ein rasches und sicheres Arbeiten, und es braucht geraume Zeit, um mit allen Besonderheiten der verschiedenen Indikatoren vertraut zu werden.

In den reinen Pufferlösungen erhielt ich im wesentlichen mit den meisten Indikatoren brauchbare Farbnuancen, wenn auch zu sagen ist, daß von den nicht auf Farbübergänge, sondern auf Umschlag der Nuance eingestellten Indikatoren farbkräftigere und prägnantere Resultate wünschbar wurden. Größtenteils unbrauchbar aber wurden die Indikatoren, besonders Methylorange, Neutralrot und Naphtolorange in gefärbten oder bakteriengetrübten flüssigen, besonders aber in festen Nährsubstraten. Wurden diese Indikatoren den Gärversuchen direkt beigefügt, erlitten sie regelmäßig Zersetzungen. Letzteres mußte leider auch an dem sonst ausgezeichneten Methylrot beobachtet werden. Die anderen Indikatoren erschienen mit einigen Ausnahmen, z. B. Nitrophenol, entweder in ihrer Färbekraft zu schwach, als daß sie die Eigenfarbe der Nährsubstrate zu überdecken vermocht hätten, oder dann war ihre Empfindlichkeit auf veränderte Dissoziationszustände durch Salze, vor allem aber nachgewiesenermaßen durch Proteine derart beeinflußt bzw. vermindert, daß keine differenzierten Farbnuancen mehr zu beobachten waren, wodurch die mit diesen Indikatoren ermittelten p_H-Werte unbrauchbar wurden oder günstigenfalls zur oberflächlichen Orientierung verwendet werden konnten.

Diese wenig erfreulichen Erfahrungen mit der Indikatorenmethode nach Sörensen-Michaelis veranlaßten mich, der einschlägigen Literatur auf diesem Gebiete vermehrte Aufmerksamkeit zu schenken. Nach den Angaben von Michaelis in seinem Praktikum[1]) waren mir die Arbeiten von Clark und Lubs und besonders deren nach Michaelis „schöne Indikatoren für die Sörensensche Methode mit prachtvollen Farbübergängen" wohlbekannt. Aber weder die amerikanische Literatur, noch die Indikatoren selbst waren mir zugänglich. Einem glücklichen Zufall habe ich es zu verdanken, daß im Herbst 1922 Herr Dr. K. F. Meyer, Professor of Research Medicine, George William Hooper Foundation for Medical Research an der Universität

1) l. c. S. 29/30.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

von San Francisco, in unserem Institut arbeitete und mir sowohl die mangelnde Literatur als auch die Indikatoren von Clark und Lubs zur Verfügung stellte. Prof. Meyer teilte mir die vorzüglichen Erfahrungen mit, die er in seinem Institut mit einer Indikatorenmethode gemacht hatte, welche in dem bereits erwähnten Buch von Clark beschrieben wird. Daraufhin habe ich diese verbesserte Sörensensche Indikatorenmethode im hiesigen Institut ebenfalls erprobt. Die Erfahrungen mit ihr sind bis heute überaus gute gewesen. Sie hat die auf sie gesetzten Erwartungen nicht nur bestätigt, sondern sie hat sich im allgemeinen in der bakteriologischen Technik als die Methode erwiesen, die für die Bestimmung der p_H-Werte praktisch in Frage kommt[1]). Nachdem ich die Methode in einer solchen Form ausprobiert habe, daß sie vor allem für kleinere, finanziell nicht besonders leistungsfähige Institute mit großem Vorteil anwendbar ist, erachten wir es als eine Notwendigkeit, für die Einführung bzw. die Verbreitung dieser Methode in der bakteriologischen Technik bemüht zu sein. Unseres Wissens sind aber die notwendigen Voraussetzungen im deutschen Forschungsgebiet kaum vorhanden[2]). Es erscheint uns daher begründet zu sein, wenn ich im folgenden die Indikatorenmethode nach Sörensen-Clark technisch genau beschreibe unter Verwendung der in unserem Institut gemachten Erfahrungen.

I. Herstellung der Stammlösungen.

Allgemeines.

1) Wasser. Das gewöhnliche destillierte Wasser muß in einer Jenaer Retorte unter Zusatz von $Ba(OH)_2$ destilliert werden. Die ersten Anteile des Destillates werden nicht gesammelt. Hierauf versieht man den Kühler mit einem sog. Vorstoß, entleert das Kühlwasser und jagt während ca. 5—10 Min. Wasserdampf durch den Kühler (Abtötung der Schimmelsporen). Vorsichtig wird das Kühlwasser wieder fließen gelassen, und das Destillat kann nunmehr in einer Flasche mit Glasstopfen aufgefangen werden. Diese Flasche wird mit dem Vorstoß vermittelst steriler Watte luftdicht abgeschlossen (Verhinderung der Infektion). Die Flasche selbst muß vor Verwendung mit Bichromat-Schwefelsäure und Soda gereinigt, mit zweifach destilliertem Wasser gespült und dann unter Watteverschluß ca. $^1/_2$ Std. im Dampftopf gehalten worden sein. Nach Erkaltenlassen daselbst ist sie zur Aufnahme des destillierten Wassers gebrauchsfertig, wobei darauf zu achten ist, daß die Flaschen stets gefüllt sind und höchstens 2 Tage altes Wasser enthalten. Es ist zweckmäßig, den Stopfen + Hals der verschlossenen Flasche mit Stanniol zu überziehen (Verhütung der Infektion).

2) Flaschen zur Aufnahme der Stammlösungen. Es werden 6 mindestens 1 l fassende Flaschen aus gutem Glas, ohne Schliff, mit Bichromat-Schwefelsäure und Soda gereinigt, mit dem doppelt destillierten Wasser gespült und hernach unter Watteverschluß ca. $^1/_2$ Std. im Dampftopf gehalten, worauf sie ausparaffiniert werden. Dies geschieht, wie folgt: Reines Paraffin mit einem Schmelzpunkt von ca. 60—65° wird durch Kochen mit reinem dest. Wasser auf seine Reinheit geprüft, und zwar mit den Indikatoren Bromthymolblau und Phenolrot. Das Waschwasser muß neutral sein und in der Platinschale verdampft keinen Rückstand aufweisen. Die Entmischung von Paraffin und Wasser tritt durch

1) Nach den amerikanischen Erfahrungen.

2) Siehe früher.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Stehenlassen bei Zimmertemperatur rasch ein. Das Paraffin darf kein Wasser in sich eingeschlossen halten. Es muß daher in dünner Schicht im Trockenschrank bei 100—105° getrocknet werden. Nunmehr wird dieses Paraffin in genügender Menge heiß in die verschiedenen, von der Sterilisation her noch warmen Flaschen gegossen, diese sofort mit dem Wattepfropf wieder verschlossen, und unter beständigem Drehen werden die Flaschen sorgfältig mit einer ca. 1—2 mm dicken Paraffinschicht überzogen.

3) Stopfen und Pipetten. Zum Verschließen der Stammlösungen werden auf die Flaschen gut passende Stopfen aus bestem Kautschuk mit einer Bohrung gewählt. Diese Stopfen werden ca. 20 Minuten in destilliertem Wasser, das eine Spur Soda enthält, gekocht. Jeder Stopfen wird unter Verwendung einer neuen Handbürste (Nagelbürste) sorgfältig gereinigt, mit reinem destillierten Wasser gespült und auf reinem Filtrierpapier staubfrei trocknen gelasseu.

Zur Entnahme der Stammlösungen dienen 25 ccm Präzisionspipetten auf Auslauf und in $^1/_{10}$ ccm geeicht. Nach erfolgter Reinigung dieser Pipetten, wie für Glaswaren bisher üblich, wird in jede Pipette in ihrem oberen Ende etwas gewöhnliche Watte als Filter eingestoßen. Durch jeden Kautschukstopfen wird eine Pipette getrieben, wobei zu beachten ist, daß die Ziffer 12,5 auf der Pipette gut lesbar bleibt. Stopfen und Pipetten werden höchstens 10 Min. bei 108° im Autoklav sterilisiert und an einem staubfreien Orte trocknen gelassen. Vor ihrer Verwendung stülpt man über deren oberes Ende ca. 5—6 cm gut haftenden Gummischlauch und verschließt ihn bzw. die Pipette mit einem passend kleinen, aber tadellosen Quetschhahn. (Bei der CO_2-freien NaOH-Stammlösung wird außerdem in passender Weise ein Natronkalkfilter vorgeschaltet, welcher bei der Entnahme der Natronlauge an der Pipette bleibt, während bei den anderen Stammlösungen das Schlauchstück entfernt wird.)

Die Stammlösungen[1]).

M/5 Kaliumchloridlösung (ist nur notwendig zur Herstellung der sauersten Puffergemische). Kaliumchlorid „zur Analyse" von Kahlbaum wird bei 120° in dünner Schicht während 24 Std. getrocknet, und nach dem Erkalten über Schwefelsäure werden 14,912 g bei 15° C zu 1 l gelöst[2]).

M/5 saure Kaliumphthalatlösung. Dieses Salz wird nach Dodge (1915), wie folgt, hergestellt: 60 g reines Kaliumhydroxyd werden mit 50 g sublimiertem Anhydrid der Orthophthalsäure in ca. 400 ccm gewöhnlichem dest. Wasser gelöst. Die abgekühlte Lösung wird mit Phenolphthalein geprüft. Durch Zugabe von KOH-Lösung oder Phthalsäure wird die Lösung neutralisiert (in verdünnter Lösung auf ein leichtes Nelkenrot einzustellen). Hierauf wird die insgesamt verbrauchte Menge Phthalsäureanhydrid $(50 + x)$[3]) nochmals zugesetzt und unter Erwärmen auf dem Wasserbad vollständig in Lösung gebracht, heiß durch Papier filtriert und im 22er Brutschrank[4]) auskristallisieren gelassen. Die Kristalle, meist noch etwas gräulich gefärbt, werden abge-

1) Man vergleiche hierzu das Kapitel VI des zitierten Buches von Clark.

2) Es ist notwendig, die reinen Präzisionsmaßkolben mit Watteverschluß in den kalten Dampftopf zu stellen, und ca. 15—20 Min. bei strömendem Dampf zu halten.

3) x = g Phthalsäureanhydrid, die zur Neutralisation verbraucht werden.

4) Unter 20° kristallisiert nach Dodge ein Salz von der Formel 2 $KHC_8H_4O_4$ $C_8H_6O_4$ aus.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nutscht und in möglichst wenig heißem, gereinigtem dest. Wasser gelöst und wiederum wie oben zur Kristallisation gebracht. Die Mutterlauge wird auf dem Wasserbade eingeengt und ebenfalls bei 22° der Kristallisation überlassen. Ebenso wird hier die Reinigung der Kristalle mit wenig Wasser ausgeführt. Diese Reinigung wird so lange fortgesetzt, bis die Kristalle rein weiß erscheinen, was nach 3—4maligem Umkristallisieren der Fall ist. Die Ausbeute beträgt etwa 85—90 Proz. Das so gewonnene Salz wird auf reinem Filtrierpapier trocknen gelassen, pulverisiert und bei 110—115° zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es wird in n/10-Lösung mit n/10-NaOH-Lösung gegen Phenolphthalein titriert und muß davon exakt equilavente Mengen verbrauchen. Von diesem so hergestellten Salze werden nach dem Erkalten über Schwefelsäure 40,836 g bei 15° C zu 1 l gelöst.

M/5 saure Kaliumphosphatlösung. KH_2PO_4 „zur Analyse" von Kahlbaum wird in dünner Schicht während 24 Std. bei 110—115° getrocknet, und nach dem Erkalten über Schwefelsäure werden 27,232 g bei 15° C zu 1 l gelöst. Die Lösung muß gegen Bromphenolblau deutlich blau und gegen Methylrot deutlich rot reagieren.

M/5 Borsäure-, M/5 Kaliumchloridlösung. Borsäure „zur Analyse" von Kahlbaum wird gewogen und in dünner Schicht ca. 2—3 Wochen über Kalziumchlorid aufbewahrt. Vor Verwendung der Säure wird sie wiederum gewogen. Von der gewichtskonstanten Säure werden 12,4048 g bei 15° C zu 1 l gelöst. Zu demselben Liter werden außerdem 14,912 g Kaliumchlorid von früher eingewogen.

M/5 Natronlauge, CO_2-frei. Die Herstellung dieser Lösung macht einige Schwierigkeiten. Nach den Angaben von Clark kommt man bei sorgfältigem Arbeiten sicher, wenn auch etwas langsam, zum Ziel. Verfügt man über eine gute Zentrifuge mit mechanischem Antrieb, so kann man schneller und bedeutend einfacher arbeiten. Ich kann folgendes Vorgehen empfehlen: In einem Jenaer Erlenmeyer-Kolben werden 100 g Natriumhydroxyd in Stangen „zur Analyse" von Kahlbaum mit 100 ccm dest. Wasser zusammengebracht. Der Kolben wird mit Stanniol verschlossen, und das völlige Auflösen und Abkühlen der konzentrierten, stark getrübten Lauge abgewartet. Diese wird jetzt in gut gereinigten Zentrifugengläsern bei einer Tourenzahl von etwa 3000 pro Minute während 10—15 Min. zentrifugiert. Von der völlig klaren Lauge werden 10 ccm bei 15° zu 1 l verdünnt und davon 10 ccm mit N-Salzsäure titriert. Hieraus wird der eventuelle Wasserzusatz berechnet und die nunmehr grob eingestellte M/5-Lauge sofort in die paraffinierte Flasche mit dem Natronkalkfilter gegossen. Zur Titerstellung dieser Lösung wird nach Dodge (1915), wie folgt, verfahren: Einige Proben des sauren Phthalates (siehe früher) werden zu ungefähr 1,6 g auf 4 Stellen genau abgewogen, in 20 ccm gereinigtem dest. Wasser gelöst und je 4 Tropfen Phenolphthalein zugesetzt. Hierauf wird ein CO_2-freier Luftstrom (Natronkalkröhre) durch die verschiedenen Proben geleitet und mit M/5 NaOH titriert[1]).

24,487 ccm M/5 NaOH-Lösung — 1,0000 g KH-Phthalat. Hieraus wird der Titer für die Lauge berechnet und auf einer kleinen Etikette der Flasche angehängt. Auf dieser Etikette wird zweckmäßig das Herstellungsdatum wie auch die Bezeichnung der Stammlösung hier und ebenso bei den anderen notiert.

1) Es genügt vollkommen, beim Entfernen der Pipette bzw. des Stopfens die Flasche während dieser Zeit mit einem Kautschukstopfen verschlossen zu halten. Man bindet diesen zweckmäßig an der Flasche an.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

M/5 Salzsäure. Reine 20-proz. Salzsäure s = 1,110 wird destilliert, von dieser werden 34 ccm bei 15° C zu 1 l gelöst und mit M/5 NaOH oder mit Soda wird der Titer bestimmt. Ist eine weitere Verdünnung notwendig, wird diese vorgenommen und hernach wird mit M/5 $AgNO_3$-Lösung der endgültige Titer mit Kaliumchromat als Indikator ermittelt.

II. Herstellung der Puffergemische.

Durch zweckmäßige Mischung der beschriebenen Stammlösungen stellt Clark[1]) Puffergemische mit den pH-Werten von 1,2—10,0 bei Intervallen von 0,2 her. Dabei wird für jeden Intervallwert ein Vorrat von 200 ccm hergestellt. Von diesen Vorräten werden für die kolorimetrischen Messungen je 10 ccm in Reagenzgläser nach Bedarf einmal oder für eine Serie von Bestimmungen verwendet. Bei konsequent steril hergestellten Puffergemischen gelang es mir, die einmal hergstellten Pufferlösungen in Reagenzgläsern à 10 ccm immer wieder zu verwenden. Dabei fallen die ungefähr 70 Vorratsflaschen à 200 ccm weg, und außerdem hat man jederzeit jeden pH-Wert mit den verschiedenen übereinandergreifenden Indikatoren zur Verfügung. Außerdem hat man es, wie unten ersichtlich wird, sehr leicht, sich 2, ja sogar 5 „Parallelpufferserien" anzulegen. Ich ging hierzu, wie folgt, vor:

Allgemeines. Zweckmäßig werden mindestens 10 Präzisionsmaßkolben à 50 ccm sorgfältig gereinigt (Ausspülen mit gereinigtem dest. Wasser), dann unter Watteverschluß für ca. ½ Std. im Dampftopf gehalten und dort erkalten gelassen. Ebenso werden 10 Auslaufpipetten à 10 ccm gereinigt und unter Einlegen eines Wattefilters in das obere Ende behandelt. Nun besorgt man sich zur Herstellung je einer Serie der Puffergemische ungefähr 80—90 Jenaer Reagenzgläser. Diese müssen so ausgewählt werden, daß sie alle den gleichen äußeren Durchmesser haben. Es wird zweckmäßig ein solcher von 16—18 mm[2]) gewählt bei einer Länge der Röhrchen von 16 cm. Diese Röhrchen müssen einige Tage mit konz. Salzsäure stehen gelassen, mit Bürste und Wasser behandelt und dann mit gereinigtem dest. Wasser gespült werden, worauf sie unter Watteverschluß, am besten im Autoklaven, sterilisiert werden. Vor Staub geschützt, läßt man sie freistehend trocknen.

Aus bestem Kautschuk hergestellte, die Röhrchen absolut dicht verschließende Stopfen sind nun noch notwendig. Dieselben werden mit Bürste und heißem Sodawasser gereinigt und nachher so lange in gereinigtem dest. Wasser gekocht, bis dieses, mit Phenolrot oder Bromthymolblau versetzt, neutrale Reaktion gibt. Die Stopfen werden in sterilen Doppelschalen, die mit ebensolchem Filtrierpapier belegt sind, aufbewahrt.

Zweckmäßig schreibt man sich jetzt noch für jedes Röhrchen gummierte Papieretiketten, auf welchen außer dem betreffenden pH-Wert, die Puffermischung und der zugegebene Indikator vermerkt sind.

Die Puffermischungen. In den folgenden Mengenverhältnissen werden die verschiedenen Stammlösungen gemischt und bei 15° C mit gereinigtem dest. Wasser zu 50 ccm aufgefüllt[3]).

1) l. c. Taf. 21.

2) Es ist dies nicht nur notwendig, damit immer die gleiche Sichttiefe (Farbintensität) vorhanden ist, sondern auch, damit die Röhrchen leicht und doch genau in den Komparator hineingehen.

3) Werden zweckmäßigerweise auf einmal eine Serie von 10 verschiedenen Puffergemischen hergestellt, so müssen die Maßkolben vor ihrer Verwendung für die nächste Serie selbstverständlich wieder sterilisiert werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

KCl-HCl-Mischung.

p_H bei 20° C.

1,2	12,5	ccm	M/5	KCl	16,1	ccm	M/5	HCl	zu	50	ccm	gelöst
1,4	„	„	„	„	10,4	„	„	„	„	„	„	„
1,6	„	„	„	„	6,6	„	„	„	„	„	„	„
1,8	„	„	„	„	4,2	„	„	„	„	„	„	„
2,0	„	„	„	„	2,7	„	„	„	„	„	„	„
2,2	„	„	„	„	1,7	„	„	„	„	„	„	„

Phthalat-HCl-Mischung.

p_H bei 20° C.

2,2	12,5	ccm	M/5	KH-Phthalat	11,7	ccm	M/5	HCl	zu	50	ccm	gelöst
2,4	„	„	„	„	9,9	„	„	„	„	„	„	„
2,6	„	„	„	„	8,2	„	„	„	„	„	„	„
2,8	„	„	„	„	6,6	„	„	„	„	„	„	„
3,0	„	„	„	„	5,1	„	„	„	„	„	„	„
3,2	„	„	„	„	3,7	„	„	„	„	„	„	„
3,4	„	„	„	„	2,5	„	„	„	„	„	„	„
3,6	„	„	„	„	1,5	„	„	„	„	„	„	„
3,8	„	„	„	„	0,7	„	„	„	„	„	„	„

Phthalat-NaOH-Mischung.

4,0	12,5	ccm	M/5	KH-Phthalat	0,1	ccm	M/5	NaOH	zu	50	ccm	gelöst
4,2	„	„	„	„	0,9	„	„	„	„	„	„	„
4,4	„	„	„	„	1,9	„	„	„	„	„	„	„
4,6	„	„	„	„	3,0	„	„	„	„	„	„	„
4,8	„	„	„	„	4,4	„	„	„	„	„	„	„
5,0	„	„	„	„	6,0	„	„	„	„	„	„	„
5,2	„	„	„	„	7,5	„	„	„	„	„	„	„
5,4	„	„	„	„	8,9	„	„	„	„	„	„	„
5,6	„	„	„	„	10,0	„	„	„	„	„	„	„
5,8	„	„	„	„	10,7	„	„	„	„	„	„	„
6,0	„	„	„	„	11,4	„	„	„	„	„	„	„
6,2	„	„	„	„	11,7	„	„	„	„	„	„	„

KH_2PO_4-NaOH-Mischung.

p_H bei 20° C.

5,8	12,5	ccm	M/5	KH_2PO_4	0,9	ccm	M/5	NaOH	zu	50	ccm	gelöst
6,0	„	„	„	„	1,4	„	„	„	„	„	„	„
6,2	„	„	„	„	2,1	„	„	„	„	„	„	„
6,4	„	„	„	„	3,1	„	„	„	„	„	„	„
6,6	„	„	„	„	4,4	„	„	„	„	„	„	„
6,8	„	„	„	„	5,9	„	„	„	„	„	„	„
7,0	„	„	„	„	7,4	„	„	„	„	„	„	„
7,2	„	„	„	„	8,7	„	„	„	„	„	„	„
7,4	„	„	„	„	9,9	„	„	„	„	„	„	„
7,6	„	„	„	„	10,7	„	„	„	„	„	„	„
7,8	„	„	„	„	11,3	„	„	„	„	„	„	„
8,0	„	„	„	„	11,5	„	„	„	„	„	„	„

Borsäure, KCl-NaOH-Mischung.

7,8	12,5	ccm	M/5	(H_3BO_3, KCl)	0,4	ccm	M/5	NaOH	zu	50	ccm	gelöst
8,0	„	„	„	„	1,0	„	„	„	„	„	„	„
8,2	„	„	„	„	1,5	„	„	„	„	„	„	„
8,4	„	„	„	„	2,1	„	„	„	„	„	„	„
8,6	„	„	„	„	3,0	„	„	„	„	„	„	„
8,8	„	„	„	„	4,1	„	„	„	„	„	„	„
9,0	„	„	„	„	5,3	„	„	„	„	„	„	„
9,2	„	„	„	„	6,7	„	„	„	„	„	„	„
9,4	„	„	„	„	8,0	„	„	„	„	„	„	„
9,6	„	„	„	„	9,2	„	„	„	„	„	„	„
9,8	„	„	„	„	10,2	„	„	„	„	„	„	„
10,0	„	„	„	„	11,0	„	„	„	„	„	„	„

Vermittels der sterilisierten Pipetten werden diese Puffergemische à 10 ccm in die entsprechenden Reagenzröhrchen abgefüllt, mit den

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

passenden Indikatoren[1]) (je 5 Tropfen) versetzt und sofort mit einem sterilen Kautschukstopfen sorgfältig verschlossen[2]).

Die verschiedenen Indikatoren verteilen sich auf die verschiedenen Puffergemische, wie folgt:

pH	Indikator
1,2— 2,8	Thymolblau (saure Phase)
3.0— 4,6	Bromphenolblau
4,4— 6,0	Methylrot
5,4— 7,0	Bromkresolpurpur
6,0— 7,6	Bromthymolblau
6,6— 8,2	Phenolrot
8,2—10,0	Thymolblau (alkalische Phase).

Alle so erhaltenen Pufferlösungen inkl. die aus den verschiedenen Stammlösungen zusammengesetzten gleichwertigen Mischungen halten wir übersichtlich, leicht und sicher transportierbar (Bruchgefahr) in einem Holzblock aufbewahrt. Fig. 1 zeigt schematisch einen solchen Block. Er wird am besten aus wohlfeilem Hartholz (Buchsbaum) angefertigt. Wie die Figur zeigt, besteht er aus einer Grundplatte, auf der die Röhrchen in den Löchern einer Parallelplatte, die 2,5 cm über der Grundplatte fest mit dieser verbunden ist, steht. Die Maße sind in der Fig. 1 in Zentimetern angegeben und betragen: Grundplatte und gelochte Platte: je 22 × 38. Die letztere trägt 6 Lochreihen, aus je 12 Löchern bestehend. Der Durchmesser der Löcher beträgt 1,8. Ein solcher Block faßt somit 72 Röhrchen.

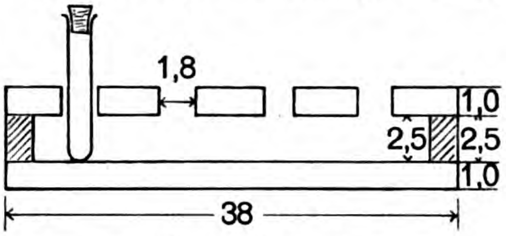


Fig. 1 (Schema).

III. Herstellung der Indikatorenlösungen[3]).

Die Indikatoren, welche Clark verwendet, hat er in Taf. 6 „Clarks und Lubs' Indikatorenliste"[4]) kurz und übersichtlich charakterisiert. Diese Tafel sei hier wiedergegeben.

Clarks und Lubs' Indikatoren.

Chemischer Name	Gewöhnliche Bezeichnung	Konzentration (Proz.)	Farbumschlag	pH-Bereich
Thymolsulfophthalein (saure Phase)	Thymolblau	0,04	Rot-gelb	1,2—2,8
Tetrabromphenolsulfophthalein	Bromphenolblau	0,04	Gelb-blau	3,0—4,6
Orthocarboxybenzolazodimethylanilin	Methylrot	0,02	Rot-gelb	4,4—6,0
Dibromorthokresolsulfophthalein	Bromkresolpurpur	0,04	Gelb-purpur	5,2—6,8
Dibromthymolsulfophthalein	Bromthymolblau	0,04	Gelb-blau	6,0—7,6
Phenolsulfophthalein	Phenolrot	0,02	Gelb-rot	6,8—8,4
Orthokresolsulfophthalein	Kresolrot	0,02	Gelb-rot	7,2—8,8
Thymolsulfophthalein (alkalische Phase)	Thymolblau	0,04	Gelb-blau	8,0—9,6
Orthokresolphthalein	Kresolphthalein	0,02	Farblos-rot	8,2—9,8

1) Siehe später.
2) Im Dunkeln an einem kühlen Ort, aber nicht im Eisschrank, aufbewahren.
3) Vgl. hierzu das Kap. V des zitierten Buches von Clark.
4) s. Clark, l. c. S. 80.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Von diesen Farbstoffen[1]) haben mir für alle bisherigen Zwecke 6 genügt[2]), nur für ganz spezielle wird es notwendig sein, auch die anderen zu benützen.

Es werden von allen Indikatoren, ausgenommen Methylrot 0,4-proz. Stammlösungen, in Form ihrer Alkalisalze, wie folgt, hergestellt: 0,1 g der im Achatmörser fein pulverisierten Farbstoffe werden mit den folgenden Mengen N/20 NaOH[3]) verrieben. Nach völliger Lösung wird mit gereinigtem destillierten Wasser auf 25 ccm Wasser aufgefüllt.

Molekulargewicht	Indikator	N/20 NaOH per 0,1 g
354	Phenolrot	5,7 ccm
669	Bromphenolblau	3,0 „
540	Bromkresolpurpur	3,7 „
466	Thymolblau	4,3 „
624	Bromthymolblau	3,2 „

Methylrot wird in alkoholisch-wässeriger 0,05-proz. Lösung, wie folgt, hergestellt: 0,1 g Farbstoff werden in 100 ccm 95-proz. reinen Alkohol gelöst und mit reinem destillierten Wasser auf 200 ccm aufgefüllt[4]).

Die 0,4-proz. Stammlösungen der 5 Indikatoren werden zweckmäßig in entsprechend kleinen braunen Glasflaschen mit eingeschliffenem Stopfen aufbewahrt. Von diesen Stammlösungen stellt man sich wässerige 0,04-proz. Lösungen her, welche in braunen Farbstoffflaschen à 50 ccm (Lamprechts Normaltropfflaschen) als Indikatoren zur Verwendung kommen.

Die 6 gebrauchsfertigen Indikatoren inkl. Methylrot stellt man sich mit Vorteil in einem Holzblock[5]) zusammen, etikettiert die Indikatorenlösungen nach ihren p_H-Werten, vermerkt Konzentration und Datum ihrer Herstellung und verwendet ganz allgemein pro 10 ccm zu messende Medien 5 Tropfen Indikatorenlösung. 5 Tropfen = 0,25 ccm, folglich ist die Konzentration der Farbstoffe 0,001 Proz., Methylrot 0,00725 Proz.

IV. Kolorimetrische Vergleichung.

Die kolorimetrische Vergleichung geschieht im Walpoleschen Komparator, den ich, wie Fig. 2 in natürlicher Größe zeigt, zweckmäßig abgeändert habe. Um die Vergleichung sowohl im durchfallenden, als auch im auffallenden Lichte[6]) vornehmen zu können, wird der Komparator auf seine 45° abgeschrägte Kante gestellt. Ein Umkippen wird dadurch verhindert, daß an der hinteren Wand des Komparators, genau in der Mitte zwischen den beiden mittleren Sichtlöchern, ein rechtwinklig-gleichschenkliges dünnes Brettchen mit seiner Hypotenuse an diese Wand geleimt wird. Der Komparator besteht im Uebrigen aus einem harthölzernen Block (billiges Holz) von $10 \times 7 \times 4$ cm langen Kanten. Die Rechteckfläche 4×10 (oben) trägt 2 Reihen mit je 4 Löchern von 1,8 cm Durchmesser und einer Tiefe von 5 cm. Die Rechteckfläche 7×10 (vorn) trägt in halber Höhe 4 sogenannte Sichtlöcher von 1,2 cm Durchmesser. Diese gehen wagrecht durch den ganzen Block hindurch

1) Sie werden in 0,1 g-Packungen von der Firma Hynson, Westcott & Dunning, Baltimore U.S.A. hergestellt und in den Handel gebracht. Neuerdings stellt die Firma C. A. F. Kahlbaum, Adlershof bei Berlin, diese Farbstoffe ebenfalls her und bringt sie in 10 g-Packungen in den Handel.

2) Prof. Meyer berichtet hierüber in gleichem Sinne.

3) Eingestellte Lauge!

4) Die Alkalisalzlösung dient nur für ganz spezielle Zwecke.

5) Wie solche Blöcke für Reagentienkombinationen viel gebraucht werden.

6) Welches ich bei Tageslicht vorziehe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und schneiden je 2 der hintereinander liegenden senkrechten Löcher rechtwinklig an[1]). Alles übrige darf aus der Walpoleschen Beschreibung[2]) als bekannt vorausgesetzt werden oder aus Fig. 2 hervorgehen.

Die Bestimmung der p_H-Werte.

Allgemeines. Die Temperatur, bei der die Vergleichung stattfindet, soll vorschriftsgemäß 20° C betragen. Dies wird aber ohne weiteres nicht möglich sein (besonders im Winter!). Auf alle Fälle müssen die Pufferlösungen und die zu bestimmenden Media gleich temperiert sein, und zwar dürfen sie nicht unter 17° C betragen. Man bringe die Serie der Pufferlösungen rechtzeitig in den betreffenden Arbeitsraum. Sehr scharfe Vergleichungen können bei gutem Tageslicht (nicht direktes Sonnenlicht) gemacht werden, wenn der Komparator auf rein weißes, glanzloses Papier (engporiges Filtrierpapier) gestellt wird. Auch künstliches Licht ist zu gebrauchen, wenn eine starke Mattierung der Lichtquelle erfolgt, sei es vermittels eines stark mattierten Glühkörpers oder eines vorgeschalteten Mattglases. Das Aufsuchen des passenden Indikators geschieht rasch und sparsam für diesen und ebenso für das betreffende Medium, wie folgt: Reine und kleine, enge Reagenzröhrchen werden mit 1—2 ccm des betreffenden Mediums gefüllt, und von 2—3 verschiedenen Indikatoren wird je 1 Tropfen in ein Röhrchen gegeben. Die infolge der hohen Konzentration des Indikators vor allem beim Einfallen des Tropfens vorübergehend auftretende intensive Farbnuance läßt sofort und deutlich erkennen, innerhalb welchen p_H-Bereichs das fragliche Medium liegt bzw. welcher Indikator in Frage kommt.

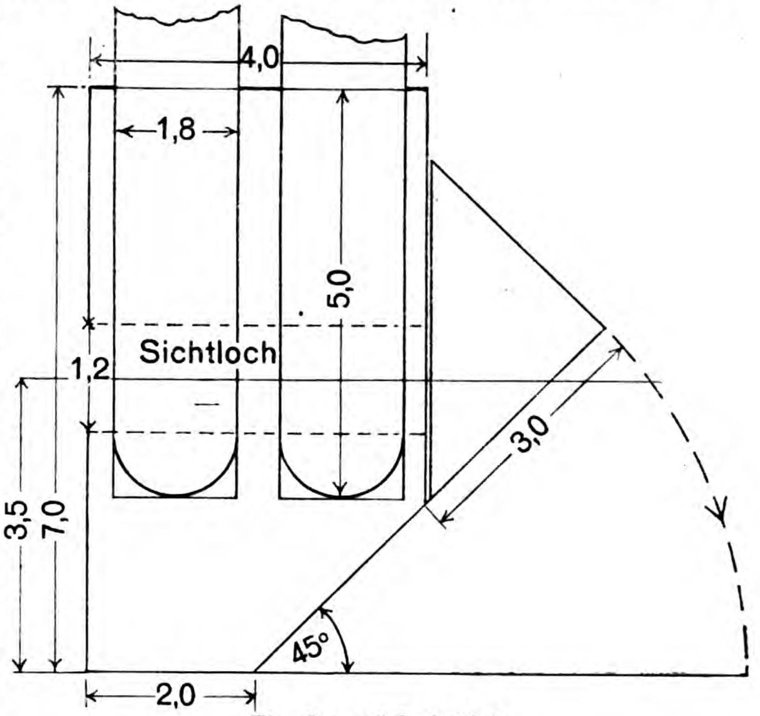


Fig. 2 (natürl. Größe).

a) Ablesung bei farblosen und klaren Medien.

Mindestens 2 reine trockene Reagenzgläser werden mit je 10 ccm des betreffenden Mediums gefüllt, je 5 Tropfen des passenden Indi-

1) Je näher die Röhrchen seitlich und von hinten zusammenkommen, desto günstiger sind die Lichtverhältnisse, insbesondere wenn eine Komplementierung der Farbnuancen notwendig wird.

2) Michaelis, Praktikum, l. c. S. 39.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kators[1]) zugegeben und gut gemischt. Die Röhrchen werden in den Komparator gestellt. Nun sucht man sich das passende Puffergemisch bzw. beide mit den entsprechenden Indikatoren heraus und stellt sie neben die entsprechenden Röhrchen in den Komparator. Die Puffergemische werden so lange ausgewechselt, bis ihre Farbnuance mit der des Mediums völlig übereinstimmt oder ihre Abweichung innerhalb von 0,2 liegt[2]). Der p_H-Wert des hierzu gebrauchten Puffergemisches entspricht dem des betreffenden Mediums, vorausgesetzt, daß die Resultate mit den beiden Indikatoren nicht mehr als um 0,1 differieren. Bestimmungen dieser Art erfordern bei einiger Uebung ca. 3—5 Min.

b) Ablesung bei gefärbten bis getrübten Medien.

Eine außerordentlich stark deckende Färbung kann durch Verdünnen des Mediums auf das 3-fache seines Volumens mit einer Neutralsalzlösung, z. B. NaCl von ungefähr gleicher Konzentration behoben werden[3]). Eine störende Trübung konnte ich jedesmal durch starkes Zentrifugieren ausgezeichnet entfernen. Es sei jedoch bemerkt, daß obige Verhältnisse Ausnahmen sind und daß man in 95 Proz. der Fälle unter Verwendung des Walpoleschen Prinzips[4]) völlig befriedigende Resultate erhält.

Nachdem die unter a) beschriebenen Vorbereitungen getroffen sind, wird in die zweite Reihe des Komparators hinter die Standard-Puffermischung ein Jenaer Reagenzröhrchen gestellt, welches 10 ccm des zu messenden Mediums enthält[5]). Neben die Puffermischung, also in die erste Reihe, kommt ein Röhrchen mit 10 ccm Medium, dem 5 Tropfen des passenden Indikators zugesetzt sind. Die Farbnuance der Puffermischung erscheint nun komplementiert durch die Farbnuance des Mediums. Die Puffermischungen werden so lange ausgewechselt, bis man die Farbnuance hergestellt hat, welche das Medium mit dem Indikator aufweist. Der endgültige p_H-Wert ist auch hier wiederum durch denjenigen der hierzu nötigen Puffermischung gegeben, und die Bestimmung erfolgt mit ebensolcher Genauigkeit unter Verwendung des hier unerläßlichen Kontrollindikators in ca. 5 Min. wie bei farblos-klaren Medien.

c) Herstellung eines bestimmten p_H-Wertes.

Es tritt häufig der Fall ein, daß in einem in bezug auf seine Dissoziationsverhältnisse nicht näher bekannten Medium ein bestimmter p_H-Wert herzustellen ist. Dies ist vor allem bei den verschiedenen Nährsubstraten der Fall. Es sei daher beispielsweise die Einstellung des Nähragars beschrieben[6]).

1) Es erhöht die Sicherheit der Bestimmung, besonders bei Medien, die eine Komplementierung ihrer Farbnuance erfordern, wenn man 2 in ihren p_H-Werten ineinander übergreifende Indikatoren gebraucht.

2) Der p_H-Wert kann demgemäß schätzungsweise auf 0,1 genau angegeben werden.

3) Vorausgesetzt, daß das betreffende System gepuffert ist.

4) Walpole, G. S., Biochem. Journ. Vol. 5. 1910. p. 207.

5) Bei ganz leicht getrübten Medien kann es von Bedeutung werden, wenn durch Zusatz von 5 Tropfen destillierten Wassers an Stelle des Indikators dieselben Verdünnungsverhältnisse geschaffen werden, wie solche in der Puffermischung vorliegen.

6) Es ist notwendig, daß in diesem Zusammenhange auf die Herstellung des Nähragars eingegangen wird.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Liebigs Fleischextrakt, Pepton, Kochsalz und der fein zerkleinerte Agar werden in den gehörigen Gewichtsverhältnissen in das entsprechende Quantum destillierten Wassers gegeben und ca. 20 Min. im Autoklav gehalten. Nachdem sich dieser so weit abgekühlt hat, daß er nicht mehr unter Druck steht, wird das noch heiße dünnflüssige Agargemisch herausgenommen. Es stellt eine beinahe klare Lösung dar, an deren Grunde sich die nicht quellfähigen Bestandteile ausgeschieden haben. Von der klaren Flüssigkeit werden in einige Jenaer Reagenzröhrchen je 10 ccm abpipettiert und diese im Wasserbade von 60—70° aufbewahrt. Ein solches Röhrchen wird mit 5 Tropfen Bromthymolblau versetzt und gut gemischt. Es weist eine gelbbraune Farbnuance auf. Dieses Röhrchen wird in den Komparator neben die Bromthymolblau-Standardpuffermischung vom p_H-Wert 7,4 [1]) gestellt. Hinter diese kommt ein Röhrchen mit 10 ccm Nähragar zu stehen, wodurch die Farbnuance des ersteren komplementiert wird. Nun wird zu den beiden Röhrchen mit Nähragar aus einer Tropfflasche (5 Tropfen = 0,1 ccm) [2]) unter gutem Durchmischen vorsichtig je die gleiche Tropfenzahl n/2 Na_2CO_3-Lösung zugegeben [3]). Ist der Agar so endlich auf die Farbnuance der komplementierten Standardpuffermischung eingestellt, wird derselbe Versuch unter Verwendung von Phenolrot wiederholt. Aus der zur Alkalisierung verbrauchten Menge n/2 Na_2CO_3-Lösung pro 10 ccm wird die für das Gesamtvolumen notwendige Menge berechnet und diese in Form einer n/1 Sodalösung zugegeben.

Angenommen, es wären 12 Tropfen n/2 Na_2CO_3-Lösung zur Einstelstellung von 10 ccm Agarflüssigkeit verbraucht worden, ergibt dies 0,24 ccm n/2 Na_2CO_3 = 12,0 ccm, n/1 Na_2CO_3-Lösung pro Liter Nähragar von $p_H = 7,4$. Der so alkalisierte Nähragar wird nach guter Durchmischung durch Watte filtriert, in Röhrchen abgefüllt und im Autoklaven bei 108° während 10 Min. sterilisiert. Der nunmehr gebrauchsfertige Nähragar wird auf seine End-p_H-Reaktion, wie folgt, nochmals geprüft:

Vom flüssigen oder verflüssigten Nähragar, der auf 50° zurückgekühlt wurde, werden mit vorgewärmter Pipette in 3 Jenaer Reagenzröhrchen je 10 ccm abpipettiert, und so rasch als möglich wird ein Röhrchen mit 5 Tropfen Bromthymolblau und ein zweites mit 5 Tropfen Phenolrot versetzt, gleichmäßig durchmischt und auf Laboratoriumstemperatur abgekühlt. Nicht unter 17° wird unter Verwendung des 3. Agarröhrchens als Komplementagar in bekannter Weise der p_H-Wert festgestellt. Es wurde mit großer Genauigkeit fast ausnahmslos ein p_H-Wert zwischen 7,1—7,3 gefunden [4]).

1) Wenn der Nährboden einen End-p_H-Wert von 7,2 haben soll, da erfahrungsgemäß die nachfolgende Behandlungsweise diesen um 0,2 erniedrigt.

3) Es entspricht dabei jeder Tropfen = 1,0 ccm N-Alkalilösung pro Liter Nährsubstrat.

2) Der Laugenzusatz muß auch im Komplementagar erfolgen, damit dieselben Konzentrationsverhältnisse, vor allem aber dieselben Eigenfarbverhältnisse wie im Agar mit Indikator, vorhanden sind.

4) Zur Einstellung von Nährsubstraten für den Massenverbrauch genügt es in folgender vereinfachter Weise zu arbeiten. Man notiert sich die im Laufe der Zeit bei der Herstellung der verschiedenen Nährsubstrate jeweils zur Einstellung auf den p_H-Wert 7,4 gebrauchte Anzahl Kubikzentimeter Alkalilösung. Im geeigneten Zeitpunkt bei der Herstellung der Nährsubstrate versetzt man dieses mit der gefundenen Anzahl Kubikzentimeter Alkalilösung und kontrolliert nunmehr das gebrauchsfertige Nährsubstrat in der angegebenen Weise auf seinen End-p_H-Wert.

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Es mag zum Schluß noch erwähnt sein, daß obige Art der Herstellung des Nähragars auch für Bouillon und Gelatine[1]) unter denselben wesentlich vereinfachten Bedingungen mit gutem Erfolg vorgenommen werden kann.

Nachdruck verboten.

Einzeitige Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung. Ihre Verwendbarkeit für diagnostische Zwecke, speziell für den Nachweis der Negrischen Körperchen.

[Aus der Station für Tierseuchendiagnostik an der Staatl. Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling bei Wien.]

Von Direktor Dr. **F. Gerlach.**

Mit dem in Heft Nr. 7 des IV. Jahrganges der Wiener Tierärztlichen Monatsschrift (1917) von mir veröffentlichten Beitrage zur Färbung der Negrischen Körperchen im Abklatschpräparate beabsichtigte ich, die den von van Gieson und Frottingham für die Schnelldiagnose der Lyssa angegebenen Methoden anhaftenden Mängel möglichst zu beseitigen. Dies ist vorerst mit dem von mir verwendeten Farbgemisch insofern nicht vollends gelungen, als den während des Krieges aus den verschiedensten Quellen bezogenen Farbstoffen die nötige Verläßlichkeit mangelte, da sie sich infolge ihrer ungleichmäßigen Zusammensetzung in sehr verschiedenem Grade wirksam erwiesen. Als mit der Rückkehr geordneter Verhältnisse nach dem Kriege auch die Beschaffung der im bakteriologischen Laboratorium wohlbewährten Farbstoffe wieder möglich geworden war, unterzog ich deshalb das von mir für die Diagnose der Lyssa geübte Verfahren der einzeitigen Färbung mit einem Gemisch von Karbolfuchsin und Loefflerschem Methylenblau einer Revision und erzielte seither gleichmäßige und gute Resultate, sofern unter Einhaltung nachstehender Vorschriften für die Herstellung des Karbolfuchsins Grüblers „Fuchsin f. Bac." und für die Bereitung von Loefflers Methylenblau „Methylenblau medicinale purum (Höchst)" oder Dr. Grüblers „Methylenblau Koch f. Bac." verwendet wurden.

I. Die Stammlösungen:

1) Karbolfuchsin. Aqua dest. 100,0 ccm, Acid. carbol. liquefact. 5,0 ccm (Schütteln!), gesättigte alkoholische Lösung von Fuchsin 10,0 ccm.

2) Basisches Methylenblau: Gesättigte alkoholische Lösung von Methylenblau 30,0 ccm, Aqua dest. 100,0 ccm, 1-proz. Kalilauge 1,0 ccm.

---

1) Zusätze irgendwelcher Art erfolgen zweckmäßig immer vor der letzten Filtration und der darauffolgenden Sterilisation in Röhrchen im Autoklav. Zur „Einstellung" der Gelatine mag es eventuell zweckmäßig erscheinen, eine 2/n Na_2CO_3-Lösung zu verwenden. Für besondere Zwecke werden entsprechend andere Elektrolyte gebraucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929 / Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Die zur Färbung dienende Mischung:

Aqua dest. 50,0 ccm, Karbolfuchsin 3,0 ccm, basisches Methylenblau 6,0 ccm. Die fertige Mischung muß in der Durchsicht blau erscheinen mit einem deutlichen Stich ins Rote. Trotz längerer Haltbarkeit der Farbmischung ist ihre Aufbewahrung über 24 Std. nicht zu empfehlen.

Die einzelnen Flüssigkeitsmengen sind mittels Pipetten, die gut gereinigt in Alkohol aufbewahrt werden und nach Durchspülen mit Wasser jederzeit gebrauchsfertig sind, abzumessen.

III. Die Färbung:

1) Fixieren der lufttrockenen Ausstrich- oder Abklatschpräparate des Ammonshornes einige Minuten in Methylalkohol oder absolutem Alkohol.

2) Abspülen unter dem Wasserstrahl, Abschwenken der anhaftenden Wasserreste. (Nicht abtrocknen!)

3) Bedecken des Objektträgers mit der Farbmischung und Erhitzen bis zur Dampfbildung. Schaukeln des Objektträgers mit der warmen Farbmischung. Abgießen der Färbeflüssigkeit. Dieser Vorgang wird noch zweimal wiederholt unter jedesmaliger Erneuerung der Färbeflüssigkeit.

4) Abspülen unter dem Wasserstrahl.

5) Abtrocknen und Untersuchen ohne oder mit Deckglaseinschluß. Ganglienzellen blau, Negrische Körperchen rot mit blauer Innenstruktur. Rote Blutkörperchen ungefärbt oder blaßrot, als solche keinesfalls zu verkennen.

Diese Färbemethode zum Nachweis der Negrischen Körperchen ist inzwischen nicht nur in meinem Institute, sondern auch anderwärts erprobt worden und wird nunmehr, wie mir teils mündlich, teils schriftlich mitgeteilt wurde, von mehreren Untersuchungsstellen wegen ihrer Einfachheit, Raschheit und Sicherheit für diese Zwecke ausschließlich angewendet.

In Nr. 10 der „Feldtierärztlichen Mitteilungen" der k. u. k. 2. Armee (März 1918) hat Jármai über günstige Erfahrungen mit der „Gerlachschen Färbungsmethode bei Wut" berichtet, die er als eine Vervollkommnung der van Giesonschen Wutfärbung und als nützliche Bereicherung der histologisch-diagnostischen Technik bezeichnet.

Schon in meiner 1. Veröffentlichung habe ich darauf hingewiesen, daß mit Hilfe dieser Methode auch der Nachweis der „Staupekörperchen" in Ausstrichen aus dem Sekrete der Augen- und Nasenschleimhäute und aus katarrhalpneumonischen Herden staupekranker Hunde mit Leichtigkeit zu erbringen ist. In dieser Hinsicht hat sich dieses Verfahren auch schon in einer größeren Zahl von Fällen praktisch bewährt, wo Hundeköpfe mit dem Ersuchen auf Stellung einer Differentialdiagnose zwischen nervöser Staupe und Wut eingesendet worden sind. Die Staupekörperchen sind hier ebenso wie bei Anwendung der komplizierteren Lentzschen oder Mannschen Färbung als homogene rote, zuweilen auch mit m. o. w. zahlreichen und verschieden angeordneten, ungefärbten, vakuolenähnlichen Innenstrukturen versehene Gebilde zu erkennen.

Häufig konnte ferner die Wahrnehmung gemacht werden, daß sowohl die in Ausstrichen aus Konjunktival- und Nasensekret staupekranker Hunde als auch die in Abklatschpräparaten aus faulig zersetzten Ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hirnen oft in großen Mengen vorhandenen Bakterien bei dieser Färbemethode besonders gut gefärbt und vortrefflich differenziert erscheinen.

Es war daher naheliegend, die einzeitige Färbung mit Karbolfuchsin-Methylenblau auch hinsichtlich ihrer Tauglichkeit für die Färbung verschiedenartiger mikroskopischer Präparate sowohl an Bakterien als auch an Protozoenmaterial zu erproben. Wie im Verlaufe diesbezüglicher, langwährender Untersuchungen ermittelt werden konnte, ist dieses Verfahren sehr wohl geeignet, die verschiedensten Arten von Mikroorganismen in mikroskopischen Ausstrichpräparaten gut gefärbt und differenziert zur Darstellung zu bringen, manche von ihnen sogar klarer und besser differenziert, als dies sonst in Uebersichtspräparaten unter Zuhilfenahme der für die Deckglasmethoden gebräuchlichen Anilinfarbstofflösungen möglich ist. Diagnostisch besonders wertvoll erweist sich die einzeitige Färbung von Uebersichtspräparaten mit Karbolfuchsin-Methylenblau namentlich für den Nachweis von Bakterien der hämorrhagischen Septikämie (Geflügelcholera, Schweineseuche), Bangschen Abortusbazillen, Eiterstreptokokken, Rauschbrandbazillen, anaëroben Sporenbildnern überhaupt u. dgl. m. Geflügelspirochäten und Trypanosomen von der Ratte konnten auf diese Weise ebensogut wie mit Giemsa-Lösung zur Anschauung gebracht werden.

Für die Darstellung von Mikroorganismen mit Hilfe der einzeitigen Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung ist auch eine Vereinfachung in der Behandlung der mikroskopischen Präparate insofern zulässig, als an Stelle der Alkoholfixierung die Fixierung der Ausstriche über der Flamme des Bunsen-Brenners treten kann und daß mit einmaligem Aufgießen der Färbeflüssigkeit und dreimaligem Erhitzen bis zur Dampfbildung, also ohne Erneuerung der Farbmischung, das Auslangen zu finden ist.

Die Bakterien erscheinen blau, das sie umgebende Medium, je nach seiner Beschaffenheit, rot bis blauviolett.

Selbstverständlich kann die von mir angegebene Färbemethode diagnostisch nur in solchen Fällen Anwendung finden, wo auf die Feststellung der Gram-Festigkeit verzichtet werden kann. Bei Studien über die Zahl, Verteilung und Struktur von Mikroorganismen dürften sich ihr weitere Anwendungsgebiete eröffnen.

Nachdruck verboten.

Studien über Bakteriophagenwirkung.

[Aus der Biologischen Abteilung des Staatl. Serotherapeutischen Institutes in Wien.]

Von **Torahiko Ikoma** (Nagoya, Japan).

I. Vermögen durch Bakteriophagen abgebaute Bakterien Agglutinin zu binden?

Die folgende Untersuchung beschäftigt sich mit der im Titel angeführten Frage, ob der Bakteriophage bei seiner Wirkung auf Bakterien ihre Agglutinin-bindenden Eigenschaften zerstört, wodurch wir einen Anhaltspunkt für die Tiefe des Eiweißabbaues gewinnen können. Wenn

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

nämlich das arteigene Eiweiß der Bakterien bei der Bakteriophagenwirkung unversehrt bleibt, so muß auch die agglutininbindende Kraft erhalten bleiben, während wir aus dem Verschwinden dieser Eigenschaft auf eine Zerstörung des arteigenen Eiweißes schließen können.

Die Untersuchungen wurden aus einem aus Taubenkot hergestellten (d'Herelle, Der Bakteriophage, 1922), auf B. dysenteriae Shiga kräftig wirkenden Bakteriophagen ausgeführt, von welchem 1 Tropfen genügte, um eine mit einer Oese beimpfte Agarkultur vollkommen zu sterilisieren. Dieser Bakteriophage wurde in eine mit B. dysenteriae Shiga beimpfte Bouillonkultur eingetragen und nach 24 Std. die Kultur zur Hälfte keimfrei filtriert, zur Hälfte durch Erhitzen auf 56° sterilisiert. Es wurde nun geprüft, ob durch diese Kultur ein agglutinierendes Serum in seiner Wirkung gehemmt wird oder nicht, ob also die durch den Bakteriophagen gelösten Bakterien imstande waren, den Agglutinationstiter herabzudrücken oder nicht.

Versuchsanordnung:

I.	/ 1 ccm	I.-S. Sh.	(1 : 100)	+ 0,5	ccm	Bouillon	/ + 0,5	ccm	B. Sh.	Agglut.
II.	/ 1	„	(1 : 500)	+ 0,5	„	„	/ + 0,5	„	„	„
III.	/ 1	„	(1 : 1000)	+ 0,5	„	„	/ + 0,5	„	„	„
IV.	/ 1	„	(1 : 100)	+ 0,5	„	L 56	/ + 0,5	„	„	„
V.	/ 1	„	(1 : 500)	+ 0,5	„	„	/ + 0,5	„	„	„
VI.	/ 1	„	(1 : 1000)	+ 0,5	„	„	/ + 0,5	„	„	„
VII.	/ 1	„	(1 : 100)	+ 0,5	„	Lf	/ + 0,5	„	„	„
VIII.	/ 1	„	(1 : 500)	+ 0,5	„	„	/ + 0,5	„	„	„
IX.	/ 1	„	(1 : 1000)	+ 0,5	„	„	/ + 0,5	„	„	„

Zeichenerklärung: I.-S. Sh. = agglutinierendes Immunserum f. B. dysenteriae Shiga; B. Sh. = Aufschwemmung von B. dysent. Shiga in Bouillon; L 56 = durch Bakteriophagenwirkung gelöste Kultur von B. dysent. Shiga bei 56° abgetötet; Lf = durch Bakteriophagenwirkung gelöste Kultur von B. dysent. Shiga keimfrei filtriert; / / = 1 Std. bei 37° (zwecks Bindung).

Es zeigte sich, daß weder die erhitzten noch die durch Filtration von Bakterienleibern befreiten, der Bakteriophagenwirkung unterworfenen Bakterien eine Hemmung der Bakterienwirkung herbeizuführen imstande sind. Es vermögen also die durch Bakteriophagen aufgelösten Bakterien kein Agglutinin zu binden.

Dagegen vermag, wie d'Herelle angibt, das Lysin in Gegenwart einer Bakterienaufschwemmung komplementbindend zu wirken (d'Herelle, Der Bakteriophage und seine Bedeutung für die Immunität, 1922, S. 92). Nach diesen Ergebnissen hat also das Lysin, d. h. die durch Bakteriophagen aufgelösten Bakterienleiber, denen wieder lytische Fähigkeit innewohnt, in Gegenwart der Bakterien, welchen sie entstammen, wohl komplementbindende, aber nicht agglutininbindende Eigenschaft. Vom biochemischen Standpunkte aus kann das bedeuten, daß der Abbau durch den Bakteriophagen ziemlich tiefgreifend erfolgt, da wir wissen, daß die agglutinogene, nicht aber die komplementbindende Eigenschaft an Eiweißkörper gebunden ist.

II. Werden bei der Bakteriolyse Bakteriophagen frei?

Die Frage, ob bei der Bakteriolyse Bakteriophagen frei werden, wurde in der Weise geprüft, daß Choleravibrionen der Bakteriolyse unterworfen wurden und in der Flüssigkeit nach Bakteriophagen gesucht wurde. Zu diesem Zwecke wurde der bekannte Pfeiffersche Versuch angestellt: Injektion von Choleravibrionen gleichzeitig mit einem

Generated on 2019-09-15 12:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

hochwirksamen Immunserum in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. Nach $^1/_2$ Std. wurde das Peritonealexsudat entnommen und versucht, in diesem Exsudat Bakteriophagen für Choleravibrionen zu erhalten, indem in der von d'Herelle angegebenen Weise mehrere Röhrchen mit fallenden Mengen von Choleravibrionen beimpft und das Peritonealexsudat tropfenweise hinzugefügt wurde. Nach 1 Std. wurden Schrägagarröhrchen beimpft. Weder diese noch die Bouillonröhrchen zeigten eine Spur von Bakteriophagenwirkung. Der Versuch wurde fortgesetzt, um eine Anreicherung der etwa vorhandenen Bakteriophagen zu erzielen. Auch dieser Versuch war vergeblich. Das praktische Ergebnis war also, daß es nicht gelang, Bakteriophagen durch die Bakteriolyse oder, vorsichtiger ausgedrückt, bei der Anstellung des Pfeifferschen Versuchs, zu erhalten.

Bei diesen Versuchen ging ich von der Annahme aus, daß bei dem Pfeifferschen Versuch eine Bakteriolyse, also eine Auflösung der Bakterienleiber, erfolge, eine Annahme, welche allerdings durch die Versuche d'Herelles (Der Bakteriophage und seine Bedeutung für die Immunität, S. 118) in Frage gestellt erscheint. Immerhin scheinen mir die von dem genannten Autor angeführten Tatsachen durchaus nicht dafür zu sprechen, daß überhaupt keine Bakteriolyse erfolge, vielmehr lassen sich seine Versuche damit erklären, daß wohl ein Teil der Vibrionen durch das agglutinierende Serum, auch in Gegenwart von bakteriolytischem Komplement, geschützt wird, doch beweist der Versuch durchaus nicht, daß nicht etwa ein anderer Teil der Vibrionen gelöst wird, also der Bakteriolyse unterliegt. Wie sollte man sich sonst das Auftreten der Bakteriengranula und vor allem das zweifellose Verschwinden der weitaus größten Zahl der Keime erklären? Auch wenn sich die Zahl der Granula, wie d'Herelle angibt, nicht verringert, so spricht das nicht gegen die Auffassung, daß die Granula nur Reste von Vibrionen sind, daß also eine Bakteriolyse vorangegangen und zur Bildung der Granula beigetragen hat. In vitro, das wird auch von Pfeiffer angegeben, wird stets nur das Granulastadium erreicht, in vivo können die Vibrionen vollkommen aufgelöst werden (Pfeiffer, Dtsch. med. Wochenschr. 1896. S. 99). Es muß also zunächst unbedingt an der Pfeifferschen Vorstellung festgehalten werden, daß das Phänomen, gleichgültig, ob es nur bis zur Granulabildung oder bis zur gänzlichen Auflösung führt, ein Ausdruck der Bakteriolyse ist.

Wir konnten also durch Bakteriolyse keine Bakteriophagen frei machen, oder, anders ausgedrückt, eine Flüssigkeit, welche durch Bakteriolyse aufgelöste Bakterien enthält, vermag keine bakteriolytische Wirkung auf die Bakterien gleicher Art zu entfalten. Ein Moment muß freilich noch erwähnt werden. Wie aus d'Herelles Arbeiten hervorgeht, gelingt es nur schwer, Bakteriophagen für Choleravibrionen zu erhalten; doch wurden gerade diese Vibrionen gewählt, weil der Einwand wegfiel, es seien bereits im Ausgangsmaterial Bakteriophagen vorhanden gewesen.

Zusammenfassung.

1) Durch Bakteriophagen aufgelöste Bakterien binden kein Agglutinin. — 2) Bei der Auflösung von Choleravibrionen im Pfeifferschen Versuche werden keine Bakteriophagen frei.

Abgeschlossen 1. Januar 1924.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg (Pr.) (Direktor: Prof. Dr. Selter).]

Von Privatdozent Dr. **W. E. Hilgers.**

Die Plattenkultur zur Gewinnung isolierter Kolonien anaërober Sporenbildner ist dadurch in ihrer technischen Ausführung erschwert, daß zur Herstellung des sauerstoffarmen Raumes ausgedehnte teure Nebenapparate (Kippscher Apparat, Kohlensäurebombe, Wasserstrahlpumpe usw.) nötig sind, deren Anschaffung heutzutage fast unmöglich ist. Die Lentz-Platte mit dem Plastilinring ebenso wie deren Modifikationen leiden unter dem Uebelstande, daß im Brutschrank durch die Wärmedehnung das Plastilin nicht immer luftdicht abschließt und der Bedarf an dem teuren Pyrogallol für jede Platte unverhältnismäßig groß ist. Hierdurch eignen sich diese Methoden nicht zur Serienzüchtung mit großen Plattenmengen.

Zwar genügt im großen und ganzen zur Kultur luftscheuer Bazillen bei entsprechender Ausgangsverdünnung die Schüttelkultur in hoher Traubenzuckeragarschicht mit nachträglicher Reinzüchtung der gewachsenen Einzelkolonien im Stich, doch ist die Methode dann nicht ausreichend, wenn das Aussehen und das Wachstum der anaëroben Bazillen auf der Oberfläche optimaler Nährböden, z. B. der Zeißlerschen Bluttraubenzuckeragarplatte, zur Identifizierung im wesentlichen ähnlicher sporenbildender Anaërobier herangezogen werden soll.

Ein erheblicher Fortschritt in der anaëroben Plattenkultur bedeutet die Benutzung der Bluttraubenzuckeragarplatte nach Zeißler[1]), deren Bebrütung in dem sogenannten Maaßenschen Apparate geschieht, dessen Sauerstoff teils physikalisch durch Luftabsaugung, teils chemisch durch Pyrogallolalkali entfernt ist. Die Größe des luftverdünnten Raumes gestattet die gleichzeitige Aufstellung einer ganzen Reihe von Platten und Röhrchen, die Luftverdünnung bedeutet eine erhebliche Ersparnis an Pyrogallol.

Zeißler[2]) hat in einem derartig luftverdünnten Apparate auf Grund der Wachstumsverschiedenheit auf der Traubenzuckeragarplatte eine systematische Differenzierung der anaëroben Sporenbildner vorgenommen, die nach den hier im hygienischen Institut gemachten Nachprüfungen recht brauchbar zu sein scheint.

Da hierbei größere Mengen von Plattenkulturen unter anaëroben Verhältnissen anzulegen waren und mir ein Maaßenscher Apparat

1) Zeißler, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 28.

2) Vortrag auf dem Mikrobiologentage Würzburg 1922; vgl. auch das Kapitel von Zeißler „Die Technik der Anaërobenzüchtung". (Handb. d. mikrobiolog. Techn. v. Kraus-Uhlenhuth. Bd. 2. S. 961 ff. [Urban u. Schwarzenberg]. Berlin 1923.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht zur Verfügung stand, mußte ich mich nach einem Ersatze umsehen. Hierzu habe ich den bereits seit längerer Zeit in den Handel gebrachten und in vielen Haushaltungen benutzten Vakuumapparat zur Konservierung von Nahrungsmitteln in Weckgläsern als Ersatz des Maaßenschen Apparates herangezogen. (Ich benutzte den von der Firma Siroklu-Leipzig, freundlichst zur Verfügung gestellten Siroklu-Apparat, der mit Fußpumpe und Pumpschlauch geliefert wird. Als Extraanschaffung ist nur eine Garnitur von möglichst weiten Weckgläsern zur Aufnahme von Petri-Schalen passend, erforderlich.

Die Bedienung des Apparates ist außerordentlich einfach. Die fertig beimpften Petri-Schalen kommen in genügend weite Weckgläser, auf deren Boden eine entsprechende Menge Pyrogallol niedergelegt ist. Gleichzeitig wird ein mit 50-proz. Kalilauge gefülltes Röhrchen mittels eines Pappkragens auf dem Boden des Weckglases schräg aufgestellt, aus dessen enger Oeffnung später durch Neigen des durch den Luftdruck verschlossenen Weckglases die Kalilauge ausfließt und die Mischung von Pyrogallol und Kali nach der Luftverdünnung vor sich geht. Nach etwa 3 Dutzend Zügen der Fußpumpe ist ein Luftdruck von 10—20 mg Quecksilber, wie an dem außen angebrachten Vakuummeter jederzeit abgelesen werden kann, erreicht. So können eine Anzahl Weckgläser schnell hintereinander gefüllt und verschlossen werden, wobei die Weckgläser ohne vorspringende Ecken und Kanten, ohne Hähne und andere sperrige Verschlüsse leicht in jedem Brutschrank Platz finden. Soweit bis jetzt unsere Erfahrungen reichen, wuchsen die anaëroben Sporenbildner gut und typisch. In der Herstellung der Nährböden und den übrigen technischen Einzelheiten folgten wir den Angaben von Zeißler. Die von ihm beobachtete starke Reduktion des Hämoglobins der Traubenzuckeragarplatte trat auch bei Benutzung des Siroklu-Apparates deutlich in Erscheinung. Unsere Erfahrungen mit diesem Apparate, dessen Anschaffung alle übrigen teuren Nebenapparate außer einer Anzahl Weckgläsern überflüssig macht, sind so günstig, daß er besonders für kleine Laboratorien, die über eine Wasserstrahlpumpe nicht verfügen, geeignet sein dürfte. Bei Benutzung der von Zeißler in der Technik der Anaërobenzüchtung eingeführten Traubenzuckeragarplatte bedeutet die Verwendung eines solchen leicht zu handhabenden, verhältnismäßig billigen Vakuumapparates mit einer Garnitur von Weckgläsern eine erhebliche technische und wirtschaftliche Erleichterung.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen

zu dem vorstehenden Aufsatze von Privatdozent Dr. Hilgers über die Verwendung der Haushaltsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena.]

Von Prof. Dr. **Abel**.

Der Aufsatz von Dr. Hilgers bietet uns Gelegenheit, mitzuteilen, daß wir vor einigen Jahren im Anschluß an Untersuchungen über die Brauchbarkeit des von den Anhalter Metallwerken Winkler & Co.,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dessau, hergestellten Vakuumapparates Hermetisator für die Konservierung von Nahrungsmitteln im Haushalt ebenfalls den Gedanken verfolgt haben, diesen Apparat für die Anaërobierzüchtung zu verwenden.

Der Hermetisator stellt ein eimerartiges Blechgefäß dar, mit dem eine einfache Ventilpumpe fest verbunden ist. Die durch Vakuumwirkung zu verschließenden Gefäße, Glasdosen von Weck, Rex usw., werden mit Gummiring- und Metallbügelverschluß zwischen verstellbare Haltbleche unverrückbar in den Apparat eingesetzt. Dann wird dieser bis oben mit Wasser gefüllt und ein Blechdeckel, der nur in der Mitte eine kleine Durchbohrung hat, auf einen starken Gummiring in den oberen Teil des Apparates gelegt. Verschließt man nun die Bohrung im Apparatdeckel mit dem Finger, drückt den Deckel fest auf seine Gummiunterlage und pumpt Wasser aus dem Apparate, so tritt Luft aus den Konservengläsern in den Apparat aus, und es entsteht in den Gläsern wie im Apparate eine Luftverdünnung, deren Stärke von der Zahl der Pumpenhübe abhängt. Wenn man schließlich die mit dem Finger verschlossene Bohrung im Apparatdeckel wieder freigibt, strömt durch sie Luft in den Apparat, nicht aber in die Gläser ein, vielmehr schließen diese infolge des Vakuums in ihnen sehr fest.

Der Hermetisator scheint uns noch einfacher gebaut und verwendbar zu sein, als der erst später in den Handel gebrachte, von Dr. Hilgers benutzte, uns übrigens nur nach Abbildungen bekannte „Siroclu-Moment". Unsere anfänglich gehegte Hoffnung, mit dem Hermetisator die Luft so vollständig aus den Konservengläsern auspumpen zu können, daß die Anaërobier ohne weiteres darin wachsen würden, hat sich freilich nicht erfüllt. Wir konnten der Absorption des noch in den Gläsern verbleibenden Sauerstoffrestes nicht entraten und sind, ähnlich wie Dr. Hilgers, so vorgegangen, daß wir auf den Boden der Konservengläser Pyrogallol und Kali causticum in Substanz brachten, neben den Kulturgeräten ein leicht kippbares Gefäß mit Wasser in die Gläser stellten und dies Gefäß nach dem Auspumpen umkippten, worauf die entstehende alkalische Pyrogallollösung rasch den Rest des Sauerstoffes in den Konservengläsern absorbierte. Als Kulturgeräte haben wir Agarplatten, ferner Agar- und Bouillonröhrchen mit Watteverschluß oder Schillschen Glaskappen benutzt, als Kulturen Tetanus-, Gasbrand- und Buttersäurebazillen. Ein Sprengen der Konservengläser durch den äußeren Luftdruck ist uns nie vorgekommen. Für die Messung des Vakuums hatten wir uns seinerzeit von der den Hermetisator herstellenden Fabrik einen Aufsatz auf die Durchbohrung des Deckels fertigen lassen, der mit einem Manometer verbunden werden konnte. Wir haben aber praktisch von der Vakuummessung abgesehen, weil völlige Luftleere doch nicht zu erzielen war, und die Erfahrung bald lehrte, wie viele Pumpenhübe jeweils nötig waren.

Wir können also nach unseren Erfahrungen mit dem Hermetisator die Angaben von Dr. Hilgers ganz bestätigen und auch unsererseits die Haushaltsvakuumapparate, speziell den Hermatisator, als ein einfaches, sauberes und erfolgreiches Hilfsmittel für die Anaërobierzüchtung empfehlen. Ihre Anwendung wird besonders dann in Frage kommen können, wenn eine größere Zahl anaërober Schalen- oder gewöhnlicher Röhrchenkulturen (also nicht in hoher Schicht oder als Koksbouillon usw.) gleichzeitig angelegt werden soll. Der Vorteil liegt dann in dem schnellen und sicheren Verschluß der als Aufnahmebehälter dienenden Konservengläser. Ob eine Ersparnis an Pyrogallolverbrauch dabei erzielt wird, z. B. gegenüber den für Einzelkulturen gern von uns ver-

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wendeten Küsterschen Schalen mit der Lentzschen Plastilinabdichtung, haben wir nicht geprüft. Groß wird die Ersparnis trotz der vorherigen Luftverdünnung in den Konservengläsern kaum sein können, weil der Rauminhalt dieser Gläser beträchtlich ist und man ja mit einem Sicherheitsüberschuß von alkalischer Pyrogallollösung zur Verbürgung des Erfolges arbeiten muß.

Der Hermetisator eignet sich übrigens auch sehr gut, um sterile oder besäte Kulturröhrchen vor dem Eintrocknen zu bewahren. Die Röhrchen werden dazu in Konservengläser gestellt und diese im Vakuum zugezogen, — hier natürlich ohne Kalilauge- und Pyrogallolverwendung.

Inhalt.

Abel, Bemerkungen zu dem vorstehenden Aufsatze von Privatdozent Dr. Hilgers über die Verwendung der Haushaltsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung, S. 558.

Acklin, Oskar, Ueber die Bestimmung der pH-Werte in der bakteriologischen Technik. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 538.

Beger, H., Versuche zur Beseitigung der heterologen Trübungen bei präzipitierenden Eiweißantiseren, S. 519.

Bering, Eine „Trockenmethode“ und ihre Bedeutung für die bakteriologische Typhusdiagnose, S. 449.

Czickeli, Hermann, Biologisches über den Erreger der Coli-Pyelocystitis. I. Mitteilung: Agglutinationen mit den Patientenseris, S. 459.

Ebert, B., u. **Schulgina, O.,** Ueber Paratyphus und Typhus bei Vögeln, S. 496.

Gerlach, F., Einzeitige Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung. Ihre Verwendbarkeit für diagnostische Zwecke, speziell für den Nachweis der Negrischen Körperchen, S. 552.

Gildemeister, E., u. **Herzberg, Kurt,** Ein Lampenagglutinoskop. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 536.

Hilgers, W. E., Die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung, S. 557.

Hofmann, Edmund, Einige Bemerkungen zur Pallida-Diagnose, S. 486.

Ikoma, Torahiko, Studien über Bakteriophagenwirkung, S. 554.

Januschke, E., Beitrag zur Diagnostik des Bac. pyocyaneus, S. 492.

Kollath, Werner, u. **Lubinski, Herbert,** Zur Differentialdiagnose zwischen Vibrionen und Bacillus faecalis alcaligenes, S. 455.

Konrich, F., Untersuchungen über Normalisierung der Blutaufschwemmung für Komplementbindung und zur Wa.-Reaktion, S. 533.

Koose, Werner, Eine Laboratoriumsinfektion mit Maltafieber. Mit 1 Kurve im Text, S. 493.

Lubinski, Herbert, Zur Frage der Pathogenität des Diplococcus mucosus Lingelsheim, S. 470.

— —, Influenzabazillen als Eitererreger, S. 464.

Schilf, Friedrich, Tuberkulinreaktion und C-Vitamin. Mit 4 Kurven im Text und 1 Tafel, S. 512.

Schmidt, Hans, Zur Frage der Einwirkung von Kochsalzlösung auf Bakterien, S. 510.

Tada, Shigeru, Ist die Milzbrandimmunität an das Hautorgan gebunden? S. 477.

Utenkow, M. D., Eine neue intrazerebrale Methode der Impfung des Tollwutvirus. Mit 1 Abbildung im Text, S. 490.

van der Lingen, J. Steph., Ueber die antiseptischen Eigenschaften der Acridinverbindung des Flavins im Licht und Dunkeln, S. 509.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

589.05
CE
Ser 2a
v. 91

Nat Hist Lib.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 91 enthaltenen Arbeiten.

Abe, T., Zur Frage der Fleckfieberätiologie. 217
Abel, Bemerkungen zu dem vorstehenden Aufsatze von Privatdozent Dr. Hilgers über die Verwendung der Haushaltsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung. 558
Acklin, Oskar, Ueber die Bestimmung der pH-Werte in der bakteriologischen Technik. 538
Anigstein, Ludwik, u. Milińska, Untersuchungen über die Gelbsucht bakteriellen Ursprungs. 383
Aristowsky, W., u. Höltzer, R., Bemerkungen zur Morphologie der Spirochaeta Obermeieri. 175
Batisweiler, Johann, Ueber einen Fall von Streptothrixpyämie. 81
Becker, Rudolf, Zur Nomenklatur der Pferdebandwürmer (Anoplocephalidae). 63
Beger, H., Ueber aktive Immunisierung mit „gekupferten" Spirochätenkulturen bei der Weilschen Krankheit. 90
—, Versuche zur Beseitigung der heterologen Trübungen bei präzipitierenden Eiweißantiseren. 519
Bering, Eine „Trockenmethode" und ihre Bedeutung für die bakteriologische Typhusdiagnose. 449
Braun, H., u. Löwenstein, P., Ueber den Bacillus inconstans. Zugleich ein Beitrag zur Bedeutung der Züchtungstemperatur für die Entwicklung der Geißeln und des antigenen Apparates. 1
Brekenfeld, Zur Technik der Anaërobenzüchtung. I. Verwertung des Pyrogallol-Vakuumprinzips für Einzelplattenkulturen. 338
Brinkmann, J., Reagenzglasstudien zur bakteriziden Wirksamkeit des Hexals und Neohexals. 426
Bürgers u. Herz, H., Ueber das Vorkommen der verschiedenen Pneumokokkentypen. 42
Carra, José, Die Aminosäuren in ihrer Beziehung zur Pigmentbildung des Bacillus pyocyaneus. 154
Czickeli, Hermann, Biologisches über den Erreger der Coli-Pyelocystitis. I. Mitteilung: Agglutinationen mit den Patientenseris. 459
Dack, Gail, M. s. **Tanner, Fred W.**
Dold, H., Beiträge zur Frage der Wirkung des Harnstoffes auf Bakterien. 268
—, Ein neues Verfahren zur Isolierung von Bakteriensporen aus Bakteriengemischen. 350
Donges, Ueber Streptokokkenfunde und Streptokokkenzüchtung aus dem Blute von Masernkranken. Vorläufige Mitteilung. 45
Ebert, B., u. Schulgina, O., Ueber Paratyphus und Typhus bei Vögeln. 496
Fellinger, Berta, Untersuchungen über die Mundoscillarien des Menschen. 398
Galli-Valerio, B., Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. 120
Gerlach, F., Einzeitige Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung. Ihre Verwendbarkeit für diagnostische Zwecke, speziell für den Nachweis der Negrischen Körperchen. 552
Giemsa, G., Zur Praxis der Giemsa-Färbung. 343
Gildemeister, E., u. Herzberg, Kurt, Ein Lampenagglutinaskop. 536
— —, Ueber das d'Herellesche Phänomen. III. Mitteilung. 12
— —, Ueber das d'Herellesche Phänomen. IV. Mitteilung. 228
Ginsburg, A. N., u. Schuwalow, W. Th., Serodiagnostik der aktiven Tuberkulose mittels Komplementbindung mit den Antigenen Besredkas sowie von Nègre und Boquet. 363
Gitowitsch, W. s. **Isabolinsky, M.**
Gluchow, K., u. Rosenbaum, Z., Ueber die Bakterien des Blutes beim Typhus exanthematicus. 29
Gutfeld, Fritz v., Ueber den Wert der Gärungsprobe bei 46° (Eijkman) und der Indolreaktion zur Begutachtung von Wasserproben. 346

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hage, Erfolge mit Blutkulturen beim Typhus durch längere Bebrütung. 25
Hartenfels, Helmuth, Erfahrungen mit Meinicke-Extrakten zur Serodiagnostik der Lues. 388
Heilmann, Georg s. **Köhler, Otto.**
Herz, H. s. **Bürgers.**
Herzberg, Kurt s. **Gildemeister, E.**
Hilgers, W. E., Die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung. 557
Höltzer, R. s. **Aristowsky, W.**
Hofmann, Edmund, Einige Bemerkungen zur Pallida-Diagnose. 486
Huntemüller, O., Ein neues Verfahren zur Anaërobenzucht. 125
Ikoma, Torahiko, Studien über Bakteriophagenwirkung. 554
Isabolinsky, M., Ueber die Sterilität des Virus fixe. 396
— u. **Gitowitsch, W.,** Ueber die Sachs-Georgi-Syphilisreaktion. 393
Januschke, E., Beitrag zur Diagnostik des Bac. pyocyaneus. 492
—, Kasuistische Beiträge zur Bakteriologie der Aërogenes-Gruppe. 356
Jeney, A. v., Aendert sich der Paratyphus A-Bazillus durch Tierpassage? Beiträge zur Theorie d. Agglutination. 366
Kadisch, Ernst, Beiträge zur Anaërobentechnik. 330
Kersten, H. E. s. **Lange, L.**
Kirchner, Otto, Zur Technik der Anaërobenzüchtung. II. 340
Kister, Endo-Nährböden bei der Pestdiagnose. 280
Köhler, Otto, u. **Heilmann, Georg,** Ueber vergleichende intrakutane und intravenöse Sensibilisierung des Menschen mit Kaninchenserum. 112
Kollath, Werner, u. **Lubinski, Herbert,** Zur Differentialdiagnose zwischen Vibrionen und Bacillus faecalis alcaligenes. 455
Konrich, F., Untersuchungen über Normalisierung der Blutaufschwemmung für Komplementbindung und Wa.-Reaktion. 533
Koose, Werner, Eine Laboratoriumsinfektion mit Maltafieber. 493
Lange, L., u. **Kersten, H. E.,** Weitere Untersuchungen über „Bayer 205". 323
Laubenheimer, K., Zur Färbung der Tuberkelbazillen nach Konrich. 78
Lauda, E. s. **Luger, A.**
Lauda, Ernst, Zur Histopathologie der herpetischen Meningoencephalitis des Kaninchens. 159
Löwenstein, P. s. **Braun, H.**
Lubinski, Herbert, Influenzabazillen als Eitererreger. 464
—, Statistische Betrachtungen zur Grippepandemie in Breslau 1918—22. 372
—, Zur Frage der Pathogenität des Diplococcus mucosus Lingelsheim. 470
— — s. **Kollath, Werner.**
Luger, A., u. **Lauda, E.,** Zur Aetiologie des Herpes zoster. Ein Beitrag zum Herpes- und Encephalitisproblem. 205
Lusztig, Alexander, Agglutinationsversuche mit dem Bacillus paratyphus abortus equi. 410
Manteufel, P., u. **Tomioka, Y.,** Ueber die Benutzung von Fleisch an Stelle von Serum als Antigen bei der Herstellung von präzipitierenden Antiseren für die biologische Nahrungsmitteluntersuchung. 317
Matsumoto, Takima, Versuche über die Vermehrung von Bakteriophagen. 413
McGowan, J. P., Bradsot or Braxy. 54
Meißner, Gertrud, Ueber Bakteriophagen gegen Choleravibrionen. 149
Milińska, Z. s. **Anigstein, Ludwik.**
Mirone, Giuseppe, Weitere Anwendungen des Entfärbungsvermögens der chinesischen Tusche in der bakteriologischen Technik. 300
Mutussis, Constantin, Eine Blastomyces-Art aus einer Hautaffektion. 78
Nesmelow, Z., Untersuchungen über Amöben. Erster Teil. 182
Neuhaus, Carl, u. **Prausnitz, Carl,** Die Rolle der Haut bei der Bildung von Antikörpern. 1. Agglutinine und Bakteriolysine. 444
Nishiura, Seiichi, Ueber die Immunisierung gegen Rauschbrand mit Kulturfiltraten. 401
Oba, Shiro s. **Zuelzer, Margarete.**
Pfeiler, W., Sedimentierflasche zur Aufbewahrung von präzipitierenden Seren bzw. anderen klaren Flüssigkeiten. 143
Plasaj, S., Ueber das Wesen der Bakterienkapseln. 353
Prausnitz, Carl, u. **Preuss, Max,** Der Rezeptorenapparat der in Asciteskultur gezüchteten Typhusbazillen. 145
Prausnitz, Carl s. **Neuhaus, Carl.**
Preusse, Max s. **Prausnitz, Carl.**
Rabinowitsch, Marcus, Zur Serodiagnostik des Echinokokkus. 102
Radice, Leonardo, Beitrag zur Kenntnis der Wunddiphtherie. 20
Reichert, Fr., Untersuchungen über das d'Herellesche Phänomen. 235
Rosenbaum, S. s. **Gluchow, K.**
Saphir, Otto, Berichtigung einer von M. Knorr im Centralblatt für Hygiene und deren Grenzgebiete Bd. 4. 1923. Heft 2 gemachten Bemerkung über ein von mir in diesem Blatte angegebenes neues anaërobes Plattenverfahren. 351
Schiff, Friedrich, Tuberkulinreaktion und C-Vitamin. 512
Schiller, Ignaz, Ueber „erzwungene" Antagonisten. I. Mitteilung. 68
Schmidt, Hans, Zur Frage der Einwirkung von Kochsalzlösung auf Bakterien. 510
—, **Ludwig,** Ueber eine durch Leberegel bedingte Seuche beim Meerschweinchen. 315

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Scholz, W., Ueber die Brauchbarkeit der Flockungsreaktion für die Auswertung antitoxischer Sera (insbesondere des Diphtherieantitoxins). 72
Schuckmann, W. v., Zur Biologie von Dictyostelium mucoroides Bref. 302
Schulgina, O. s. **Ebert, B.**
Schuwalow, W. Th. s. **Ginsburg, A. N.**
Seki, Tadahide, Ueber einen eigenartigen Ruhrerreger. 101
Semenow, W. P., Ueber ein neues Färbungsverfahren der Tuberkelbazillen im Sputum. 140
Silber, L., Ueber die Herkunft der X-Proteen und ihr Zusammenhang mit der Weil-Felixschen Reaktion. 191
Simon, M., Ueber die Häufigkeit der Lamblieninfektion im Rheinlande. 309
Stutzer, M. J., Zur Frage über die Fäulnisbakterien im Darm. 87
Tada, Shigeru, Ist die Milzbrandimmunität an das Hautorgan gebunden? 477
Tanner, Fred W., and **Dack, Gail M.**, A Study of Yeasts from Sore Throats. 282
Tomioka, Y. s. **Manteufel, P.**
Utenkow, M. D., Eine neue intrazerebrale Methode der Impfung des Tollwutvirus. 490
Vallen, Ilse, Ueber Schädigung der Leukozyten beim d'Herelleschen Phänomen. 424
van der Lingen, J. Steph., Ueber die antiseptischen Eigenschaften der Acridinverbindung des Flavins im Licht und Dunkeln. 509
van Riemsdijk, M., Ueber eine verbesserte Optik der Ausflockungsreaktionen und die Technik der serologischen Reaktionen im allgemeinen. 128
Weintraub, A., Ueber Glukosidspaltung durch Bakterien der Coli-Gruppe. 273
Zuelzer, Margarete, und **Oba, Shiro,** Beitrag zur Kenntnis saprophytischer Spirochäten. 95

II. Sachverzeichnis.

Aërogenes-Gruppe, Bakteriologie. 356
Agglutinoskop, Lampen- 536
Akridinverbindung des Flavins. 509
Amöben. 182
Anaërobenkultur. 125, 330, 338, 340, 351, 557, 558
Anaphylaxie, Sensibilisierung des Menschen. 112
Anoplocephalidae. 63
Antagonisten, erzwungene. 68
Antikörper, Rolle der Haut. 444
Antitoxische Sera, Flockungsreaktion für die Auswertung. 72
Ausflockungsreaktionen s. Flockungsreaktionen.

Bac. faecalis alcaligenes, Differentialdiagnose. 455
— inconstans, kulturelles und serologisches Verhalten. 1
— influenzae als Eitererreger. 464
— paratyphi A, Aenderung durch Tierpassage. 366
— paratyphosus abortus equi, Agglutination. 410
— pyocyaneus, Diagnostik. 492
— — Pigmentbildung. 154
Bact. coli, Erreger der Pyelocystitis. 459
— — Glukosidspaltung. 273
— lactis aërogenes. 356
Bakterien, Einwirkung von Kochsalzlösung. 510
— Fäulnis-, im Darm. 87
Bakterienkapseln. 353
Bakteriophagen s. a. d'Herellesches Phänomen.
Bakteriophagen gegen Choleravibrionen. 149
— Studien über — 454
— Vermehrung. 413
Bandwürmer der Pferde. 63
„Bayer 205“. 323
Blastomyces-Art aus Hautaffektion. 51
Blutaufschwemmung, Normalisierung. 533
Blutkultur bei Typhus. 25
Bradsot. 54
Braxy. 54

Choleravibrionen, d'Herellesches Phänomen. 149
Coli-Gruppe, Glukosidspaltung. 273
Coli-Pyelocystitis. 459
Cystitis, Pyelo-, verursacht durch Bact. coli. 459

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Dictyostelium mucoroides Bref., Biologie. 302
Diphtherie, Wund- 20
Diphtherieantitoxin, Auswertung. 72
Diplococcus mucosus Lingelsheim. 470
Distomum hepaticum s. Fasciola hepatica.

Echinokokkus, Serodiagnostik. 102
Encephalitis und Herpes zoster. 205
— Meningo-, des Kaninchens. 159
Endo-Nährboden für Pestdiagnose. 280
Endomyces bei Halsentzündungen. 282
Entfärbung mittels chinesischer Tusche. 300

Färbung der Tuberkelbazillen. 78, 140
—, einzeitige Karbolfuchsin-Methylenblau-. 552
Färbung nach Giemsa. 343
Fasciola hepatica bei Meerschweinchen. 315
Fäulnisbakterien im Darm. 87
Flavin, Akridinverbindung des —, antiseptische Eigenschaften. 509
Fleckfieber, Aetiologie. 217
— Bakterien des Blutes bei — 29
Flockungsreaktion für Diphtherieserum. 72
Flockungsreaktionen, verbesserte Technik. 128

Gärungsprobe bei Wasserbegutachtung. 346
Gelbsucht bakteriellen Ursprungs. 383
Geschwülste s. Tumoren.
Giemsa-Färbung. 343
Grippe, Pandemie 1918—1922. 372

Harnstoff, Wirkung auf Bakterien. 268
— zur Isolierung von Sporen. 350
Haut, Rolle bei der Bildung von Antikörpern. 444
Hefe bei Halsentzündungen. 232
d'Herellesches Phänomen. 12, 149, 228, 235, 413, 424, 554
Herpes. 159
— zoster, Aetiologie. 205
Hexal, bakterizide Wirkung. 426
Hühner, Tumoren. 124

Indolreaktion bei Wasserbegutachtung. 346
Influenzabazillen als Eitererreger. 464

Kapseln der Bakterien. 353
Kochsalzlösung, Einwirkung auf Bakterien. 510
Komplementbindung bei Tuberkulose. 363
—, Normalisierung der Blutaufschwemmung. 533
Konrich-Färbung. 78

Lamblia intestinalis, Häufigkeit der Infektion. 309
Lampenagglutinoskop. 536
Leberegel beim Meerschweinchen. 315
Lyssa s. Wut.

Maltafieber, Laboratoriumsinfektion. 493
Masern, Streptokokkenfunde und Züchtung. 45
Meinicke-Reaktion. 338
Meningoencephalitis, herpetische, des Kaninchens. 159
Milzbrand, Immunität. 477
Monilia bei Halsentzündungen. 282
Mundoscillarien. 398

Negrische Körperchen, Nachweis. 552
Neohexal, bakterizide Wirkung. 426

Oscillarien des Mundes. 398

Parasiten, geographische Verbreitung. 120
— Untersuchungen und Technik. 120
Paratyphus bei Vögeln. 496
— A-Bazillen, Aenderung durch Tierpassage. 366
Pest, Diagnose. 280
Pferdebandwürmer. 63
p_H-Werte, Bestimmung in der bakteriologischen Technik. 538
Phytoparasiten. 121
Pneumokokken, Vorkommen verschiedener Typen. 42
Präzipitation, Aufbewahrung der Sera. 143
— Beseitigung heterologer Trübungen. 519
— Herstellung von Seren. 317
Proteus X-Stämme, Herkunft. 191
Pyocyaneus, Diagnostik. 492
— Pigmentbindung. 154
Pyelocystitis, Coli als Erreger. 459

Rauschbrand, Immunisierung. 401
Rekurrens, Morphologie des Erregers. 175
Ruhr, Erreger. 101

Sachs-Georgi-Reaktion. 393
Sedimentierflasche. 143
Serodiagnostik der Syphilis. 388, 393
— der Tuberkulose. 363
Serologische Reaktionen, Technik. 128
Simonsiella Mülleri. 398
Spirochaeta Obermeieri, Morphologie. 175
— pallida, Diagnose. 486
Spirochäten, saprophytische. 95
Spirochätenkulturen, Immunisierung bei Weilscher Krankheit. 90
Sporen, Bakterien-, Isolierung. 350
Streptokokken bei Masern. 45
Streptothrix-Pyämie. 81
Syphilis, Serodiagnostik. 388, 393

Technik, bakteriologische. 538
Tollwut s. Wut.
Tuberkelbazillen, Färbung nach Konrich. 78
— neues Färbungsverfahren. 140
Tuberkulinreaktion. 512
Tuberkulose, Serodiagnostik. 363
Tumoren bei Hühnern. 124
Tusche, chinesische, zur Entfärbung. 300
Typhus, bakteriologische Diagnose. 449
— bei Vögeln. 496
— Blutkultur. 25
— exanthematicus s. Fleckfieber.
Typhusbazillen, in Ascites gezüchtete. 145

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ueberempfindlichkeit s. Anaphylaxie.

Vibrionen, Differentialdiagnose. 455
Virus fixe, Sterilität. 396
Vitamine und Tuberkulinreaktion. 512

Wasserbegutachtung. 346
Wassermann-Reaktion. 533
Weil-Felixsche Reaktion. 191
Weilsche Krankheit, Immunisierung. 90
Wunddiphtherie. 20
Wut, Nachweis der Negrischen Körperchen. 552
— neue zerebrale Methode der Impfung. 490
— Sterilität des Virus fixe. 396

X-Stämme, Herkunft. 191

Zooparasiten. 122

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Anaërobentechnik. 126, 334, 337, 339
Bact. lactis aërogenes. 357
Cholerabakteriophagen. 151
Darmparasiten von Arctomis marmota. 123
Demodex folliculorum var. caprae. 123
Dictyostelium mucoroides Bref. 302
Falkenthal-Lampe. 537
Flockungsreaktionen. 129, 130, 132, 133—139
Herpes zoster. 206
Komparator. 549
Lampenagglutinoskop. 537
Meningoencephalitis des Kaninchens (Taf. I, II). 174, 175
Sedimentierflasche. 143
Spirochaeta Obermeieri (Taf.). 181
Spirochäten, saprophytische (Taf.) 100
Streptokokken bei Masern. 46, 47
Tuberkulinreaktion und Vitamine (Taf.). 519
Wut, neue Impfmethode. 491

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 5174

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Centralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung: Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat, Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat, Königsberg i. Pr.
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat. Breslau.

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm, Bamberg, Kunigundendamm 61 II
Präsident Dr. A. Weber, Dresden-A. 21, Eisenacherstr. 26 II

und

Prof. Dr. E. Gildemeister, Ob.-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde W, Victoriastr. 7

Verlag von Gustav Fischer in Jena

91. Band — Jena, 30. April 1924 — Heft 7/8

— Jeder Band umfaßt 8 Hefte, die in zwangloser Folge erscheinen. —

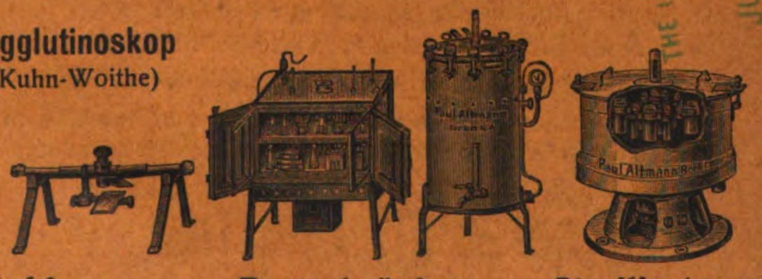
PAUL ALTMANN

Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr. — **BERLIN NW 6** — Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr.

Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie, Mikroskopie und Hygiene

Agglutinoskop
(Kuhn-Woithe)



Autoklaven Brutschränke Sterilisatoren
Centrifugen Schüttelapparate
Serodiagnostische Apparate, Wasseruntersuchungsapparate
etc. etc. etc.

Vollständige Einrichtungen von Laboratorien
Telegr.-Adresse „Utensilien-Berlin"

— Neue Dunkelfeldlampen nach Falkenthal —
— Neues „Lampen-Agglutinoskop" nach Gildemeister-Herzberg —

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ZEISS

Mikroskope

und mikroskopische Hilfsapparate für alle wissenschaftlichen Untersuchungen

* * *

Neues Stativ ASA für bakteriologische Zwecke

Kardioid-Ultramikroskop :: Lupen :: Blutkörperchen-Zählapparate :: Projektionsapparate :: Epidiaskope :: Beleuchtungseinrichtung für Operationssäle :: Polarisations-Apparate :: usw.

Druckschriften und Auskünfte kostenfrei von:

CARL ZEISS
JENA

Trockennährböden „BRAM"

(Patent Prof. Dr. Doerr)

hergestellt nach patentiertem Verfahren in Pulverform aus

Fleisch, Pepton „Witte", Agar-Agar usw.

Ab Lager in jeder Menge lieferbar:

Nähr-Bouillon, Nähr-Agar, Nähr-Gelatine und die meisten Spezialnährböden.

Die Trockennährböden ergeben nach vorschriftsmäßigem Auflösen in Wasser den gebrauchsfertigen Nährboden.

Farbstoff-Tabletten

für bakteriologische Zwecke.

Chem. Fabrik u. Seruminstitut „BRAM" G. m. b. H.

OELZSCHAU bei Leipzig.

Alleinverkauf zu Originalpreisen durch die Firma F. & M. Lautenschläger, Berlin, Chausseestr. 92

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Filialen: München, Frankfurt a. M., Hannover, Reval

Neue
Nährbodenpräparate

in fester Form zur

einfachen und **billigen Bereitung** von

Bakteriennährböden

insbesondere für anspruchsvolle Keime

(Vergl. Kuczynski & Ferner, Klinische Wochenschrift, 1923, Nr. 18.)

Standard I: Nähragar
Standard II: Nähragar
Standard I: Nährbouillon
Standard II: Nährbouillon

Fleischbrühersatz-Pulver

Packungen für je 1 Liter Nährflüssigkeit

Großpackungen zu 500 g Nährbodenpulver

Ausführlicher Prospekt wird auf Wunsch übersandt.

E. Merck, Darmstadt.

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wichtig für bakteriolog.-hygien. Institute, Laboratorien etc.

Hermetisator

(Vergl. Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt. Orig., Bd. 91, Heft 7/8, S. 558)

(Vakuumapparat zur Anaërobenzüchtung)

2 Deutsche Reichspatente :: 14 Auslandspatente

Apparate, mit Hilfe derer es möglich ist, **Substanzen, Nahrungsmittel, Hauskonserven usw. gegen Verschimmeln und Einflüsse der Luft zu schützen, den Speisen die Vitamine zu erhalten.**

Das Hermetisator-Verfahren ist wissenschaftlich und praktisch durchgebildet.

Der **Hermetisator** sollte in **keinem Laboratorium** und in keiner Küche **fehlen.**

Verlangen Sie kostenlos Prospekte.

Anhalter Metallwerke Winkler & Co.

Kommandit-Gesellschaft

Dessau

ERNST LEITZ

Berlin NW 6, Luisenstraße 45

Abteilung für

Laboratoriumsbedarf

Einrichtung und Ergänzung von mikroskopisch - bakteriologisch - chemischen und klinischen Laboratorien

Farbstoffe und Reagentien

Versandgefäße

für infektiöses Material, nach ministerieller Vorschrift

Präparatengläser

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY [redacted]
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Google
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARASITE
91 1923
3 0112 009814929

Generated on 2019-09-15 12:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814929
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN